MIKROCHIMICA ACTA

HERAUSGEGEBEN VON / EDITORIAL BOARD / PUBLIÉ PAR

A. A. BENEDETTI-PICHLER - New York · G. BLIX - Uppsala
C. DUVAL - Paris · F. FEIGL - Rio de Janeiro · J. HEYROVSKÝ - Praha
P. L. KIRK - Berkeley · H. LIEB - Graz · F. A. PANETH - Mainz
F. SCHNEIDER - New York · R. STREBINGER - Wien
C. L. WILSON - Belfast · M. K. ZACHERL - Wien

MITHERAUSGEBER / ASSISTANT EDITORS / RÉDACTEURS ADJOINTS

E. ABRAHAMCZIK - Ludwigshafen/Rhein · H. K. ALBER - Philadelphia
R. BELCHER - Birmingham · N. D. CHERONIS - New York
F. HECHT - Wien · W. KIRSTEN - Uppsala · A. LACOURT - Bruxelles
W. C. McCRONE - Chicago · A. L. THOMPSON - Montreal
PH. W. WEST - Baton Rouge · M. L. WILLARD - State College

SCHRIFTLEITUNG / EDITORIAL OFFICE / RÉDACTEUR EN CHEF

M. K. ZACHERL - Wien

1956

ZWÖLFTES HEFT (SCHLUSSHEFT)

MIT 37 TEXTABBILDUNGEN

ABGESCHLOSSEN AM 10. NOVEMBER 1956

WIEN

SPRINGER-VERLAG

1956

Mikrochim. Acta

Die Zeitschrift

„Mikrochimica Acta"

erscheint zwanglos in Heften, die zu Jahresbänden von etwa 800 Seiten vereinigt werden. Der Preis eines Heftes richtet sich nach seinem Umfang und den jeweiligen Herstellungskosten.

Zur Veröffentlichung gelangen Originalarbeiten aus dem Gebiet der allgemeinen und angewandten Mikrochemie in deutscher, englischer und französischer Sprache, wenn sie nicht mehr als $1^1/_2$ Druckbogen umfassen. Die Reihenfolge der Veröffentlichung richtet sich im allgemeinen nach dem Datum des Eingangs der Manuskripte bei der Redaktion.

Für die Zeitschrift bestimmte Manuskripte aus USA. und Canada sind zu senden an:

Editors of „Mikrochimica Acta", Department of Chemistry, Queens College, Flushing, N. Y., USA. (Dr. A. A. Benedetti-Pichler and Dr. F. Schneider)

Sonstige Manuskripte in englischer Sprache sind zu senden an:

Dr. C. L. Wilson, Department of Chemistry, The Queen's University, Belfast

Manuskripte in französischer Sprache sind zu senden an:

Prof. Clément Duval, Laboratoire de Recherches micro-analytiques de l'E. N. S. C. P., 11, rue Pierre Curie, Paris, 5

Manuskripte in deutscher Sprache sind zu senden an:

Prof. Dr. M. K. Zacherl, Wien, I., Mölkerbastei 5

Geschäftliche Mitteilungen sind zu richten an:

Springer-Verlag, Wien, I., Mölkerbastei 5
Fernsprecher: U 26 5 60 Serie, Telegrammadresse: Springerbuch Wien

Grundsätzlich werden nur Arbeiten angenommen, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind; der Autor verpflichtet sich, diese auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen. Mit der Annahme und Veröffentlichung des Manuskriptes geht das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder auf den Verlag über. Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme u. ä. von Heften der Zeitschrift, einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Fortsetzung auf der III. Umschlagseite

1956 — **Inhaltsverzeichnis** — 12. Heft

Seite

Brown, Charlotte L., and **P. L. Kirk.** Differentiation of Inks by Electrochromatophoresis 1729

Bobrański, B. Über eine neue automatische Apparatur zur Zentigramm-Bestimmung von Kohlenstoff und Wasserstoff in organischen Substanzen 1735

Schleicher, A. Neue Verbesserungen der qualitativen Schnellanalyse. II. 1747

Gorbach, G., und **A. Haack.** Über die Genauigkeit von Mikromeßgeräten aus Glas und die Herstellung von Lösungen im Mikromaßstab 1751

Mázor, L. Direkte Sauerstoffbestimmung in fluorhaltigen organischen Verbindungen 1757

Jureček, M., und **M. Nepraš.** Mikronachweis des Kohlenstoffes in organischen und anorganischen Verbindungen mittels Magnesiumaufschlusses 1762

Guagnini, O. A., y **E. E. Vonesch.** Estudios sobre acidos hidroxámicos. VII. Reconocimiento específico de ésteres fórmicos, su investigación en mezclas, especialmente con otros ésteres carboxílicos 1767

Gorbach, G., und **H. Pfrimer.** Beiträge zur mikrochemischen Weinanalyse 1774

Kolšek, J. Beitrag zur mikroskopischen Untersuchung und Identifizierung der Mutterkornalkaloide. II. 1783

School of Criminology, University of California, Berkeley

Differentiation of Inks by Electrochromatophoresis*

By

Charlotte L. Brown, and **Paul L. Kirk**

With 6 Figures

(Received March 29, 1956)

Inks represent a typical mixture of dyes with certain other constituents such as iron gallotannate. Both, inks as such and dye mixtures other than inks, have extreme significance in the field of criminalistic investigation. The chemist and the document examiner must regularly test ink to determine its general and specific nature for the study of additions, alterations, and forgery in documents. There has been no completely satisfactory method for identifying ink as to its specific brand and type until recently, and much remains to be done in expanding the newer methods to include determination of age or comparative age of writing, typing, and other forms of records on paper. The broader field of falsification and forgery also presents many problems related to the identification of dye mixtures, as in works of art, counterfeiting, and other similar matters.

Identification of writing inks by zone electrophoresis on paper has been reported previously[1]. No combination of chromatography and electrophoresis has been described to date in the separation of ink constituents and subsequent identification of the ink. It is clear that the additional information obtained regarding the adsorption of such constituents by the paper fibers must add markedly to the ease of identification as compared with electrophoresis alone. Excepting the carbon inks, virtually all writing inks in current use contain one to three or more dyes, while the "permanent" inks (including blue-black) are likely to contain iron gallotannate complex in addition. Nearly all inks contain colorless constituents as preservatives, or for the control of

* Aided by grants from the Research Committee of the University of California, and the Arthur D. Little Co., Inc.

wetting, spreading or drying qualities of the ink. For identification purposes, these constituents as well as the colored ones are significant to the extent that they are standard constituents of specific brands of ink.

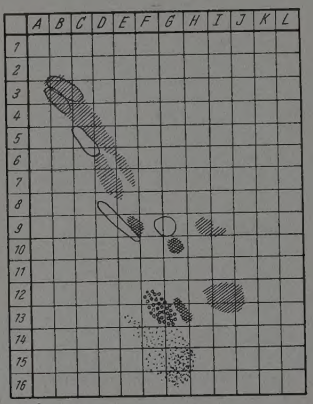


Fig. 1

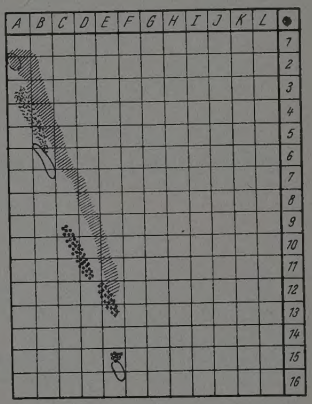


Fig. 2

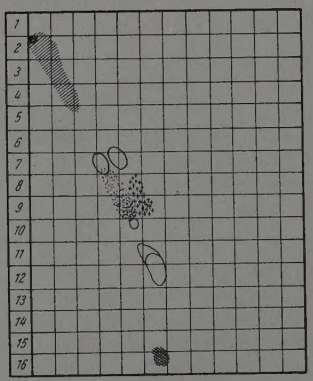


Fig. 3

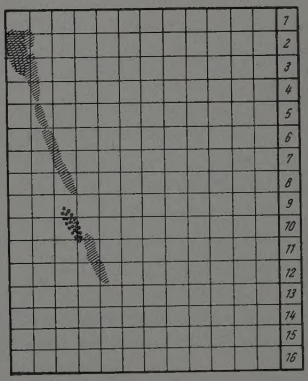


Fig. 4

The procedure here has shown itself more versatile and positive in ink identification than either chromatography on paper[2–4] or zone electrophoresis alone[1].

It is performed as a single operation requiring somewhat more time (about 1 hour) than previously described techniques[1, 4]. While the

combination operation is performed with only one sample at a time, the apparatus is designed to allow both the original multiple sample electrophoresis or single sample electrochromatophoresis. It can be

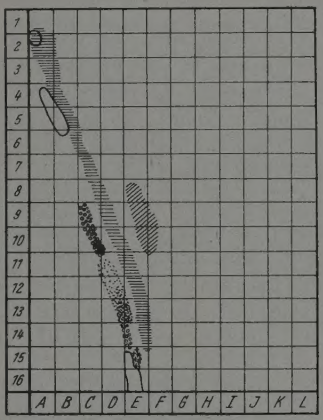


Fig. 5

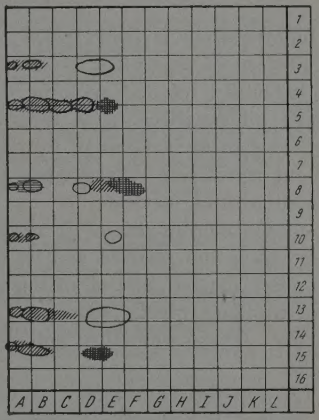


Fig. 6

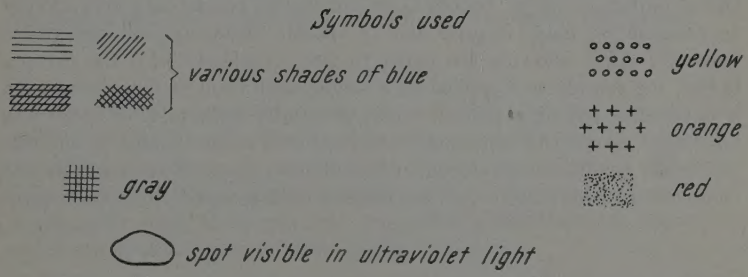


Fig. 1. Sanford Penit Jet Black Ink. Acetate buffer, ionic strength 0.05. Whatman No. 11 filter paper. 350 v, 4 ma, 55 minutes

Fig. 2. Signet Black Ink (conditions same as above)

Fig. 3. Quink Permanent Black Ink (conditions same as above)

Fig. 4. Quink Washable Black Ink (conditions same as above)

Fig. 5. Sanford Royal Black Ink (conditions same as above)

Fig. 6. Top to bottom: Stafford Permanent Blue Black Ink, Graph Washable Blue Ink, Sanford Penit Royal Blue Ink, Sanford Penit No. 925 Ink, Skrip Permanent Royal Blue Ink, Quink Permanent Royal Blue Ink. Acetate buffer, ionic strength 0.10, 30 minutes, chromatography alone

employed also for chromatography alone, and a double outfit allowing simultaneous analysis of two samples has been perfected. The richness of the patterns obtained suggests that it will be more adaptable to solution

of other ink problems such as relative age, than are other methods available at the present time. Basic research on this problem is currently in progress.

Experimental

Identification is based upon the duplication with the unknown of the pattern of separation given by known inks or ink mixtures. Thus a satisfactory method requires that the pattern be reproducible and include all constituents as separate spots or zones. It must also be applicable to an amount of ink that can be obtained from a document without significant defacement. Removal of enough permanent ink is difficult with all methods, but has not been an unsurmountable handicap to reliable identification. It may present a more serious handicap in determining the relative age of writing. Most of the permanent inks give good removal, and all of the soluble inks are readily removed. Very small capillary pipets[2] were used to place tiny drops of water on the pen line. These were then collected by capillary action with the same pipet.

The apparatus and technique were essentially as described previously[5]. The buffer that was most often employed was made by dissolving 4 g sodium acetate and 0.5 ml glacial acetic acid to make 1 l of solution. Other buffers, such as barbital, phosphate or borate mixtures having an alkaline p_H may be used and in special circumstances may prove valuable. After allowing the paper to wet completely with the flowing buffer, the sample was applied as a single small drop of ink placed with a small glass rod or capillary tube. Ordinarily an e. m. f. of 350 v was impressed across the electrodes and produced about 2.5 ma of current under the conditions employed. After about 1 hour, the separation was complete and no known ink constituent had escaped from the paper.

Results

Tests were made with 17 different black inks and 6 blue-black and blue inks, both permanent and soluble, as follows:

Black inks: Higgins Eternal; Signet; Carter's Raven, Ebony, and Midnight; Sheaffer Jet and Washable; Graph Washable; Penit Jet; Parker Microfilm; Sanford Royal; Morriset; Quink Permanent and Washable (old and new); Flo-Rite; and Superchrome Jet.

Blue and Blue-black inks: Quink Permanent Royal Blue; Waterman Permanent Blue-Black; Penit 925; Waterman Washable Blue; Penit Washable Blue; and Skrip 42 Washable Blue.

Every ink tested gave a distinguishably different pattern. In most instances the differences were marked and no possibility of confusion existed. The black inks yielded particularly rich patterns because of

the large number of dyes present in them. In the case of Penit Jet Black, there were at least 15 readily distinguishable constituents as shown in Fig. 1 and probably one or two more that were not clearly separated. Several of the inks had 7 or more as shown in Figs. 2 to 5, and very few had less than this number. The blue inks showed fewer distinguishable areas, but all tested inks were readily distinguished. Some problems, similar to those found with direct electrophoresis, were encountered with blue-black inks in that the slow moving fractions did not separate clearly but trailed. In general, the results were quite similar to those previously reported[1] for direct electrophoretic separation except that the zones were more clearly separated, and in nearly every instance, more zones were obtained than with the other technique.

The apparatus was also found to be highly effective for comparative chromatography of ink constituents, as shown in Fig. 6. Both water, as used by *Somerford*[3], and the buffers employed in electrochromatophoresis were tested. The buffers yielded superior patterns as compared with water in which much trailing of the constituents occurred. Organic solvents were not tried for the development of chromatograms because the solvents of proven value, such as butyl alcohol mixtures, attack the plastic of which the apparatus is constructed. The arrangement of the experiments was the same as that described previously[5] except that the tabs to the end vessels were cut off and no current was passed.

Summary

The recently described technique for electrochromatophoresis was applied to the identification of inks; the apparatus was also used for testing inks by simple chromatography. A total of twentythree inks tested were all clearly distinguishable by their patterns. The combination of chromatographic with electrophoretic separation yielded greater separation and more detailed patterns than other techniques.

Zusammenfassung

Das in einer vorhergehenden Mitteilung[5] beschriebene elektrochromatographische Verfahren wurde zur Unterscheidung und Charakterisierung von Tinten herangezogen; der Apparat wurde auch für einfache chromatographische Trennungen von Tintenbestandteilen benutzt. Insgesamt wurden 23 Tinten geprüft und dabei deutlich verschiedene Elektrochromatogramme erhalten. Die Verbindung von Chromatographie und Elektrophorese ergibt bessere Trennung der Bestandteile und läßt mehr Einzelheiten im Trennungsbild erkennen als Chromatographie oder Elektrophorese für sich allein.

Résumé

La technique d'électrochromatophorèse récemment décrite[5] a été appliquée à l'identification d'encres. L'appareil a été également utilisé pour le contrôle

des encres par chromatographie simple. Une épreuve portant sur vingt trois encres a permis de les différencier clairement les unes des autres par leurs électrochromatogrammes. La combinaison des techniques chromatographique et électrophorétiques a permis d'obtenir de meilleures séparations et des électrochromatogrammes plus détaillés que par toute autre méthode.

References

[1] *C. L. Brown* and *P. L. Kirk*, J. Crim. Law, Criminol. and Police Science **45**, 473 (1954).

[2] *C. L. Brown* and *P. L. Kirk*, J. Crim. Law, Criminol. and Police Science **45**, 334 (1954).

[3] *A. W. Somerford*, J. Crim. Law, Criminol. and Police Science **43**, 124 (1952).

[4] *J. W. Brackett*, Jr., and *L. W. Bradford*, J. Crim. Law, Criminol. and Police Science **43**, 530 (1952).

[5] *A. Karler*, *C. L. Brown* and *P. L. Kirk*, Mikrochim. Acta [Wien] **1956**, 1585.

Aus dem Institut für Pharmazeutische Chemie an der Medizinischen Akademie Wrocław (Polen)

Über eine neue automatische Apparatur zur Zentigramm-Bestimmung von Kohlenstoff und Wasserstoff in organischen Substanzen

Von

Bogusław Bobrański

Mit 5 Abbildungen

(Eingelangt am 4. Mai 1956)

Die Vollständigkeit der Verbrennung bei der Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmung in organischen Substanzen ist von der Anwesenheit überschüssigen Sauerstoffs in den Verbrennungsgasen abhängig[1]. Diese kann nur durch eine entsprechende Regulierung der Verflüchtigungsgeschwindigkeit bzw. des thermischen Zerfalls der zu analysierenden Substanz gewährleistet werden. Dieser Vorgang bildet den schwierigsten Teil der Elementaranalyse und fordert, besonders bei leicht zersetzlichen und explosiblen Substanzen, entsprechende Geschicklichkeit des Analytikers. Bei manchen Substanzen, die sich beim Erwärmen plötzlich zu zersetzen beginnen, kann diesem Verhalten nur durch momentane Unterbrechung des Erhitzens begegnet werden, was bei üblichen Verbrennungsapparaturen wegen der großen Wärmeträgheit desjenigen Teiles des Verbrennungsrohres, der die Substanz enthält, oft sehr schwierig oder gar nicht zu erzielen ist. Es wurden verschiedene automatisch wirkende Verbrennungsapparate konstruiert, um die Geschwindigkeit der Verflüchtung der Substanz zu regulieren und auf diese Weise einen konstanten Sauerstoffüberschuß zu garantieren. Die meisten dieser Apparate enthalten einen beweglichen Bunsenbrenner oder einen elektrischen Heizkörper, der durch ein regulierbares Uhrwerk oder einen elektrischen Motor unter dem Verbrennungsrohre in der Richtung der Substanz und des glühenden Rohrteiles bewegt wird[2–9]. Alle diese Einrichtungen wirken völlig unabhängig von dem Verhalten der Substanz beim Erhitzen. Sie können bei Serienanalysen von Substanzen, deren Verhalten beim Er-

hitzen bekannt ist, nützlich sein, sind aber für wissenschaftliche Arbeiten, wo verschiedenartige Substanzen zu analysieren sind, nicht allgemein anwendbar.

Die erste Apparatur mit einer von der Substanz selbst gesteuerten Regulierung der Vergasung der Substanz wurde von dem Verfasser und *E. Sucharda* im Jahre 1928 konstruiert[10–13]. In dieser Apparatur wurden die Druckänderungen ausgenutzt, die während der Verbrennung in dem mit einem Preglschen Bremspfropf versehenen Verbrennungsrohr stattfinden. Sie sind durch die Verdampfung der Substanz oder ihre Zersetzung beim Erhitzen verursacht, oder auch durch eine im Laufe der Verbrennung vor sich gehende Vergasung unter Neubildung von Gasmolekülen hervorgerufen. Letzteres findet vor allem beim Verbrennen des organisch gebundenen Wasserstoffs statt, da hierbei unter Verbrauch eines halben Mols Sauerstoff ein Mol Wasserdampf gebildet wird. Diese Druckänderungen bewirken unter Vermittlung eines manometrischen Regulators eine Verminderung oder sogar Unterbrechung des Gaszustroms zum beweglichen Brenner. Auf diese Weise wird die Erhitzung der Substanz, also auch ihre Verflüchtigungsgeschwindigkeit, selbsttätig gesteuert. Bei richtiger Ausführung des Regulierapparates ist seine Wirkung genau. Eine sehr präzise Einhaltung aller Ausmaße ist aber bei der Anfertigung eines Glasapparates schwer zu erreichen. Bei sehr leicht zersetzlichen Substanzen ist es unmöglich, das Erhitzen der Substanz momentan zu unterbrechen, weil der Brenner nicht nur das Substanzschiffchen, sondern auch das Verbrennungsrohr und dessen Messinghülle erhitzt. Die Wärmeträgheit der erhitzten Teile war zu groß, um eine schnelle Unterbrechung des Erhitzens zu ermöglichen. Eine Verfeinerung der Wirkung der mit Gas betriebenen Apparatur erwies sich, trotz vieler Experimente, als nicht realisierbar. Es lag also nahe, eine elektrische Apparatur zu konstruieren und bei dieser zu versuchen, die Wärmeträgheit der zugleich mit der Substanz erhitzten Teile auf ein Minimum zu beschränken.

Einen elektrischen Automat, in dem ebenfalls die Druckschwankungen im Verbrennungsrohre zur Regulierung des Verbrennungsvorganges ausgenutzt wurden, hat im Jahre 1949 *F. O. Fischer*[14] gebaut. In seiner Apparatur verläuft die Verflüchtigung der Substanz in einer Vergasungskammer, die mit einem Widerstandsdraht umwickelt und von außen mit einem gläsernen Isoliermantel umgeben ist. Die Druckschwankungen bewirken mittels eines speziellen Motors, der einen größeren bzw. kleineren Widerstand einschaltet, ein stärkeres bzw. schwächeres Erhitzen der Vergasungskammer. Doch ist die Wärmeträgheit der Vergasungskammer samt Zubehör viel zu groß, um eine momentane Unterbrechung zu ermöglichen, und daher kann die Apparatur von *Fischer* nicht als allgemein anwendbar angesehen werden.

Die Wärmekapazität des erhitzten Teiles des Rohres auf ein Minimum herabzusetzen, gelang durch Anwendung eines elektrischen Hochfrequenzgenerators zum Erhitzen der Substanz, dessen Elektrode an jenen Teil des Verbrennungsrohres angelegt wurde, in dem sich das Platinschiffchen mit der Substanz befindet. Mit dieser Anordnung läßt sich die Wärmekapazität der erhitzten Teile der Apparatur praktisch auf diejenige eines Mikroschiffchens beschränken. Das Verbrennungsrohr wird nur von dem heißen Mikroschiffchen schwach erhitzt. Eine beim Erhitzen der Substanz eintretende kleinste Druckerhöhung verursacht durch Vermittlung eines einfachen Regulators und eines Quecksilberrelais, die noch näher beschrieben werden, eine momentane Unterbrechung des Stromzuflusses zu dem Hochfrequenzgenerator und bewirkt auf diese Weise eine Unterbrechung des Erhitzens der Substanz. Die Wirkung der neuen Regulieranordnung ist äußerst präzise, so daß der Druck im Verbrennungsrohr während der ganzen Verbrennungsperiode praktisch konstant bleibt. Damit wird auch ein konstanter Sauerstoffüberschuß in den durch das Verbrennungsrohr strömenden Dämpfen gewährleistet.

Wohlbekannte Störungen entstehen bei der Verbrennung leichtflüchtiger Substanzen in allen nach dem Preglschen Prinzip arbeitenden Apparaturen durch Zurücksteigen der Dämpfe der Analysenprobe. Dem kann durch Einführung einer Glaseinlage in das Verbrennungsrohr in der Nähe des Sauerstoffeintritts vorgebeugt werden. Diese Glaseinlage füllt den freien Durchschnitt des Rohres weitgehend aus. Außerdem wurde zu demselben Zwecke die Strömungsgeschwindigkeit des Sauerstoffs auf 8 ml vergrößert, was dem Zurücksteigen erfolgreich entgegenwirkt. Die Vergrößerung der Sauerstoffgeschwindigkeit forderte aber eine entsprechende Verlängerung der Bleidioxydschicht, um vollständige Stickoxydabsorption zu garantieren. Um dabei trotzdem die Menge des Bleidioxyds, das bekanntlich[29-31] die Genauigkeit der C-H-Bestimmung stark beeinträchtigt, eher zu verkleinern, als zu vergrößern, wurde es auf dem Boden eines 12 cm langen Porzellanschiffchens ausgebreitet. Man kommt so mit einer Menge von 1 bis 2 g für etwa 10 Verbrennungen aus. Eine Auswechslung des Bleidioxyds bietet dann keine Schwierigkeiten.

Es wurden auch andere für die Absorption von Stickoxyden vorgeschlagene, sogenannte „äußere" Absorptionsmittel untersucht, die in besonderen Absorptionsröhrchen zwischen dem Kohlensäureabsorptionsapparat und dem Wasserabsorptionsapparat eingeschaltet werden[15-27]. Von diesen erwies sich nur das von *Belcher* und *Ingram*[26] vorgeschlagene Mangandioxyd als gut geeignet. Doch zeigte sich, daß bei dessen ausschließlicher Anwendung ohne Bleidioxydschicht im Verbrennungsrohr stets zu hohe Wasserstoffwerte erhalten werden, da sich Salpetersäure im Wasserabsorptionsapparat kondensiert. Dies steht im Einklang mit

der Feststellung anderer Autoren[28]. Das von *Belcher* und *Ingram*[25,26] vorgeschlagene Erhitzen des vorderen Teiles des Wasserabsorptionsapparates auf 90°, um die Kondensation des Wassers bzw. der Salpetersäure zu verhindern, hat sich nach unseren Erfahrungen, wenigstens in der Zentigramm-Skala, als erfolglos erwiesen. Die Anwendung von Bleidioxyd im Verbrennungsrohre bei der Verbrennung stickstoffhaltiger Substanzen ließ sich also nicht umgehen. Dagegen erwies sich die Ein-

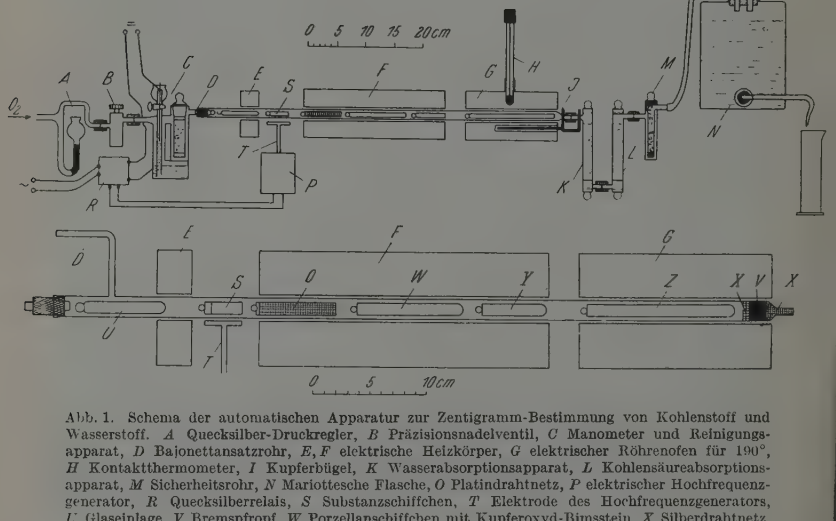


Abb. 1. Schema der automatischen Apparatur zur Zentigramm-Bestimmung von Kohlenstoff und Wasserstoff. *A* Quecksilber-Druckregler, *B* Präzisionsnadelventil, *C* Manometer und Reinigungsapparat, *D* Bajonettansatzrohr, *E*, *F* elektrische Heizkörper, *G* elektrischer Röhrenofen für 190°, *H* Kontaktthermometer, *I* Kupferbügel, *K* Wasserabsorptionsapparat, *L* Kohlensäureabsorptionsapparat, *M* Sicherheitsrohr, *N* Mariottesche Flasche, *O* Platindrahtnetz, *P* elektrischer Hochfrequenzgenerator, *R* Quecksilberrelais, *S* Substanzschiffchen, *T* Elektrode des Hochfrequenzgenerators, *U* Glaseinlage, *V* Bremspfropf, *W* Porzellanschiffchen mit Kupferoxyd-Bimsstein, *X* Silberdrahtnetz, *Y* Porzellanschiffchen mit Silberdrahtnetz, *Z* Porzellanschiffchen mit Bleidioxyd

schaltung von Mangandioxyd zwischen dem Wasserabsorptionsapparat und dem Kohlensäureabsorptionsapparat als vorteilhaft bei der Verbrennung von Substanzen, die mehr als 10% Stickstoff enthalten. Die Absorption von Stickstoffoxyden ist dann auch bei großer Geschwindigkeit des Sauerstoffstroms quantitativ und man erhält vollkommen korrekte Kohlenstoffwerte.

Die Füllung der Absorptionsapparate wurde im Vergleich mit der sonst angewandten vereinfacht. Es erwies sich nämlich, wenigstens bei der Zentigramm-Analyse, als überflüssig, im Kohlensäureabsorptionsapparat neben dem Ascarit Chlorcalcium oder andere Trockenmittel anzuwenden, da die Wasserdampftension über Ascarit derjenigen des bei 200° im Vakuum getrockneten Calciumchlorids gleich ist. Das Kohlen-

säureabsorptionsgefäß wird also von uns ausschließlich mit Ascarit gefüllt. An Stelle von Chlorcalcium wurde in unserer neuen Apparatur Kobaltchlorid ($CoCl_2$) angewandt, das bei 200° und etwa 15 mm Druck entwässert wurde. Dieses Wasserabsorptionsmittel erwies sich als sehr bequem. Im wasserfreien Zustande ist es blau gefärbt. Bei Wasseraufnahme wird es infolge Hydratbildung rot, so daß der Sättigungsgrad des Absorptionsmittels leicht zu erkennen ist.

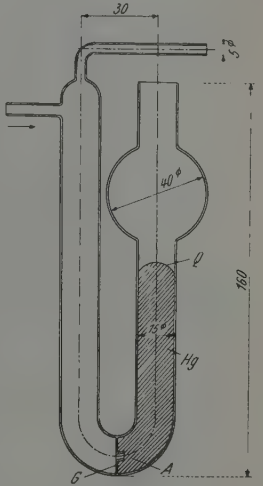


Abb. 2. Quecksilberdruckregulator für Sauerstoff. *G* Glaswand mit Öffnung *A* für den Überschuß von Sauerstoff, *Hg* Quecksilberfüllung, *Q* Quecksilberoberfläche

Beschreibung der Apparatur und ihrer Wirkung*

Die Anordnung der Apparatur ist aus der Abb. 1 zu ersehen. Sauerstoff wird einer Stahlflasche, die mit einem Reduzierventil versehen ist, entnommen und gelangt durch einen mit Quecksilber gefüllten Druckregler *A* (s. auch Abb. 2) und ein Präzisionsnadelventil *B* in einen Apparat *C*, der zugleich die Rolle eines Reinigungsapparates und eines mit angesäuertem Wasser gefüllten Manometers spielt. Darin (Abb. 3) befinden sich zwei Elektroden *a* und *b*, von denen *a* eingeschmolzen, *b* dagegen in vertikaler Richtung verstellbar ist. Steigt die Wassersäule im Manometerrohr, so wird zwischen *a* und *b* ein schwacher Strom geschlossen. Den zweiten Teil des Apparates *C* bildet ein Absorptionsgefäß (Abb. 3*d*), das zwischen zwei Wattebäuschen Ascarit enthält, wovon Kohlensäure und Wasser quantitativ zurückgehalten werden. Der gereinigte Sauerstoff gelangt nun durch das Bajonettansatzrohr *D* in das Verbrennungsrohr aus Supremax-Glas. Dieses hat eine Länge von 650 mm und einen inneren Durchmesser von 12 mm. Seine Gestalt und Füllung zeigt die Abb. 1. Der am Ende des Rohres befindliche Bremspfropf *V* wird durch Zusammenpressen gereinigten und bei 1000° geglühten Asbests hergestellt. Er läßt bei einem Druckunterschied von etwa 120 mm Wassersäule, z. B. 60 mm Überdruck von der Seite der Rohrfüllung und 60 mm Unterdruck von der Seite der Absorptionsapparate, 8 ml Sauerstoff in der Minute durch. Seine Bremswirkung wird zuerst bei gewöhnlicher Temperatur eingestellt und nachher bei 190° geprüft. Dabei ist zu bemerken, daß sich die Bremswirkung bei einem Temperaturanstieg von 20° auf

* Lieferbar von Pracownia Przyrządów Fizycznych Uniwersytetu, Wrocław pl. Nankera 4 (Polen).

190° etwa 2,5mal vergrößert. Das Verbrennungsrohr befindet sich in einem aus drei Heizkörpern *E*, *F* und *G* zusammengesetzten elektrischen Verbrennungsofen. Der 30 mm lange Heizkörper *E* und der 260 mm lange Heizkörper *F* lassen eine Temperatur 550 bis 700° (regulierbar)

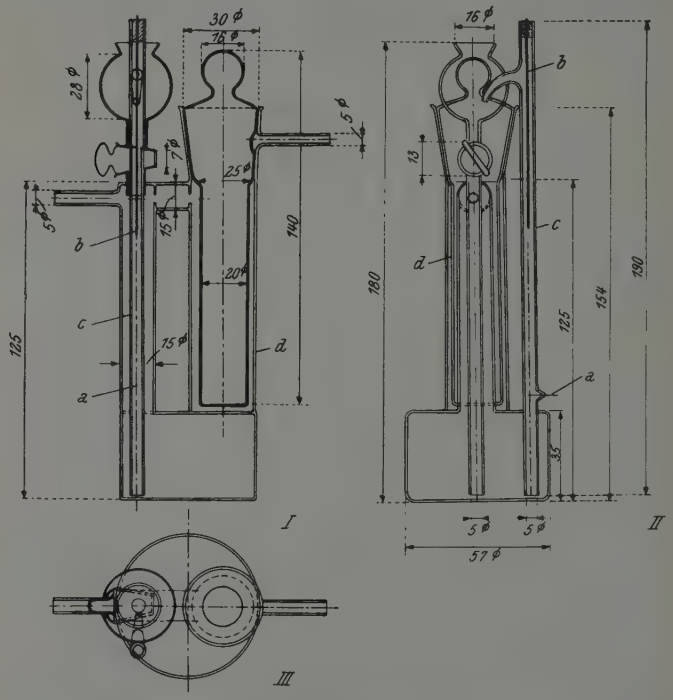


Abb. 3. Manometer und Reinigungsapparat. *I* Vorderansicht, *II* Seitenansicht, *III* Ansicht von oben. *a* eingeschmolzene Platinelektrode, *b* vertikal verstellbare Elektrode, *c* Manometerrohr, *d* Absorptionsgefäß

erzielen. Beide Heizkörper sind in der Mitte horizontal zerlegbar. Der Heizkörper *G* ist auf 190° eingestellt. Seine Temperatur wird unter Anwendung eines Kontaktthermometers konstant gehalten. Er enthält einen zweiteiligen Kupferbügel *I*, der den Schnabel des Verbrennungsrohres und das Ansatzrohr des Wasserabsorptionsapparates *K* erwärmt. Das Verbrennungsrohr wird mit zwei Absorptionsröhrchen nach *Flaschenträger*[32] *K* und *L* mittels imprägnierter Gummischlauchstückchen verbunden. Das Röhrchen *L* enthält Ascarit,

K ist mit wasserfreiem Kobaltchlorid gefüllt. Den Absorptionsröhren folgt ein Sicherheitsrohr M mit Ascarit und eine Mariottesche Flasche N.

Die zu verbrennende Substanz befindet sich in einem Platinschiffchen S. An der Stelle, wo sich das Schiffchen befindet, wird die Elektrode eines elektrischen Hochfrequenzgenerators angelegt. Die Gestalt dieser Elektrode (aus Aluminiumdraht) ist aus der Abb. 4 zu ersehen. Der Hochfrequenzgenerator kann z. B. nach dem Schema der Abb. 5 gebaut werden. Die effektive Leistung des Röhren-Hochfrequenzgenerators beträgt zirka 50 Watt. Steigt infolge des Erhitzens von Schiffchen und Substanz der Druck im Innern des Verbrennungsrohres, so wird der Strom zwischen den beiden Elektroden im Apparat C (Abb. 1) geschlossen, wodurch unter Vermittlung eines Quecksilberrelais der Stromzufluß zu dem Hochfrequenzgenerator und somit das Erhitzen der Substanz unterbrochen wird. Die dazu notwendige Druckerhöhung beträgt weniger als 0,1 mm Wassersäule.

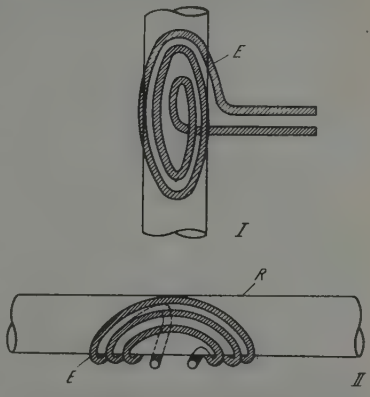


Abb. 4. Die Elektrode des elektrischen Hochfrequenzgenerators. *I* Ansicht von oben, *II* Seitenansicht. *E* Elektrode aus Aluminiumdraht, Stärke zirka 2,5 mm, *R* Verbrennungsrohr

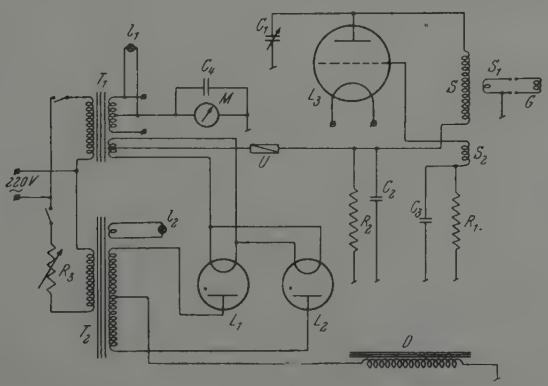


Abb. 5. Schema des elektrischen Hochfrequenzgenerators (Frequenz 400 Kc/sek, effektive Leistung zirka 50 W). L_1, L_2 Gleichrichterröhren, 2,5 V Heizspannung; L_3 Generatorröhre 300 W, Heizspannung 10 V, Anodenspannung 3 KV; R_1, R_2 Widerstände; R_3 regulierbarer Widerstand; C_1 regulierbarer Kondensator; C_2, C_3, C_4 Kondensatoren; S Anodenspule; S_1 Sekundärspule; S_2 Rückkopplungsspule; G Heizspule; D Drossel; T_1 Heiztransformator 220/10/2,5 V; T_2 Anodentransformator 220/2 × 3000/6 V; l_1, l_2 Kontrollampen; U Sicherung; M Milliamperemeter

Ausführung der Verbrennung

Bei der Inbetriebnahme einer frisch gefüllten Apparatur wird das Verbrennungsrohr etwa 6 Stunden im Sauerstoffstrom (8 ml/min) ausgeglüht; sonst wird vor Beginn der Arbeit an jedem Tage das Verbrennungsrohr etwa 1 Stunde im Sauerstoffstrom geglüht. Dann werden die von außen wie sonst gereinigten Absorptionsröhrchen eingeschaltet und durch das glühende Rohr etwa 200 ml Sauerstoff hindurchgelassen. Die Absorptionsapparate werden sodann verschlossen und abgeschaltet, wobei man sie mit Rehlederhandschuhen anfaßt. Danach werden nur die Ansatzröhrchen der Absorptionsapparate von außen und innen sorgfältig mit Rehleder gereinigt. Die Wägung der Apparate erfolgt nach 10 Minuten. Gleichzeitig werden in das Mikroschiffchen 20 bis 30 mg Substanz eingewogen. Währenddessen wird das Verbrennungsrohr weiter geglüht. Die gewogenen Apparate werden dann angeschlossen und das Mikroschiffchen mit der Substanz in das Rohr so weit eingeführt, daß es etwa 10 bis 15 mm von dem glühenden Teil des Rohres entfernt bleibt, wonach die Glaseinlage eingeschoben und das Verbrennungsrohr mit einem mit imprägniertem Gummischlauch überzogenen Glasstab verschlossen wird. Dann werden die Absorptionsapparate geöffnet, der Hebel der Mariotteschen Flasche gesenkt und mit dem Ventil *B* ein konstanter Überdruck im Verbrennungsrohr eingestellt.

Jetzt wird der Heizkörper *E* (Abb. 1) eingeschaltet. Er soll etwa 20 mm von dem Substanzschiffchen entfernt sein. Nachdem der Heizkörper die Temperatur der Rotglut erlangt hat, wird die Sauerstoffgeschwindigkeit von 8 ml/min durch Volumenmessung des aus der Mariotteschen Flasche *N* in 2 Minuten ausfließenden Wassers kontrolliert. Dann wird der Überdruck etwa 5 mm niedriger eingestellt als er bei einer Sauerstoffgeschwindigkeit von 8 ml/min beträgt und die obere Elektrode so weit gesenkt, daß sie von der Manometerflüssigkeit berührt wird, sobald die Sauerstoffgeschwindigkeit 8 ml/min beträgt. Wird nach einigen Minuten der Druck konstant, so schiebt man die Elektrode des Hochfrequenzgenerators unter das Substanzschiffchen und schaltet diesen ein. Dadurch wird das Schiffchen erhitzt, was einen sofortigen Druckanstieg hervorruft. Der Generator wird infolgedessen sehr bald ausgeschaltet. Das weitere Erhitzen des Substanzschiffchens erfolgt vollautomatisch. Es wechseln nun nacheinander kurzdauernde Einschaltungs- und Ausschaltungsperioden des Anodenstromes zum Generator. Die Intensität der Heizwirkung des Generators kann von vornherein durch Nähern oder Entfernen der Elektrode von dem Verbrennungsrohr eingestellt werden. Doch hat dies keine besondere Bedeutung, da bei leichtflüchtigen Substanzen der Strom öfter, bei schwerer flüchtigen Substanzen dagegen seltener ausgeschaltet wird. Nachdem die Substanz

vollständig verflüchtigt bzw. zersetzt ist, wird der Generator automatisch eingeschaltet, wodurch das Schiffchen stärker und schließlich bis zur Rotglut erhitzt wird. Dadurch werden die in oberen Teilen des Rohres verbliebenen Substanzreste verflüchtigt bzw. zersetzt. Diese vollautomatisch regulierte Verbrennungsperiode dauert 5 bis 15 Minuten. Der Hochfrequenzgenerator wird nun ausgeschaltet, die Elektrode von dem Rohr entfernt und die darin verbliebenen Kohlenstoffreste mit dem Heizkörper *E* verbrannt. Bis zu dieser Zeit sind aus der Mariotteschen Flasche 60 bis 150 ml Wasser ausgeflossen. Jetzt werden zusätzlich bei Substanzen, die bis 8% Wasserstoff enthalten, 200 ml Sauerstoff, bei solchen, die über 8% Wasserstoff enthalten, 300 ml durchgeleitet. Die Absorptionsapparate werden geschlossen, von dem Verbrennungsrohre abgenommen (Wildlederhandschuhe), ihre Ansatzröhrchen gereinigt und nach 10 Minuten gewogen. Das Abwischen der Apparate erfolgt nur vor Inbetriebnahme des Apparates, also einmal am Tage. Nach der Wägung der Absorptionsapparate kann die nächste Verbrennung erfolgen. Bei Substanzen, die über 10% Stickstoff enthalten, wird zwischen Kohlensäureabsorptionsapparat und Wasserabsorptionsapparat noch ein weiterer Absorptionsapparat eingeschaltet, der zu $^2/_3$ mit dem bei 150° getrockneten reinen Mangandioxyd und zu $^1/_3$ mit wasserfreiem Kobaltchlorid oder Calciumchlorid gefüllt ist. Beide Trockenmittel müssen im Vakuum bei 200° getrocknet werden.

Analysenresultate

Mit der oben beschriebenen Anordnung wurden verschiedene Substanzen analysiert, die außer Kohlenstoff und Wasserstoff auch Halogen, Stickstoff und Schwefel enthielten. Die folgende Zusammenstellung einiger Analysenresultate soll die erzielte Genauigkeit illustrieren:

Substanz	% C		% H	
	ber.	gef.	ber.	gef.
Dinitrochlorbenzol	35,51	35,5	1,49	1,38
Dinitrophenylhydrazin	36,38	36,4	3,03	3,16
5-Isopropyl-5(γ-jod-β-acetoxypropyl)-barbitursäure	36,47	36,25	4,08	4,18
5-Allyl-5(γ-jodacetonyl)-barbitursäure	34,30	34,3	3,18	3,21
5-Isopropyl-5-acetonyl-barbitursäure	53,10	53,1	6,24	6,46
		53,2		6,35
5-Allyl-5-β-hydroxypropyl-barbitursäure	53,2	53,1	6,24	6,27
5-Phenyl-5-(γ-jod-β-hydroxypropyl)-barbitursäure	40,15	40,2	3,37	3,32
m-Dinitrobenzol	42,78	42,9	2,42	2,23
		42,9		2,33
		42,8		2.41

(Fortsetzung der Tabelle)

Substanz	% C		% H	
	ber.	gef.	ber.	gef.
Palmitinsäure	75,0	75,0	12,5	12,4
Bis-(β-N-methylpiperidiniumäthyl)sulfid-dichlorid	46,50	46,6	8,36	8,32
5-Allyl-5(β-acetoxypropyl)-barbitursäure	53,74	53,8	6,03	5,98
Mandelsäure	63,10	63,0	5,28	5,27
5-Allyl-5(β-hydroxy-γ-jodpropyl)-barbitursäure	34,15	34,05	3,70	3,77
5-Allyl-5-acetonyl-barbitursäure	53,57	53,6	5,35	5,36
Phenylhydrazon der 5-Isopropyl-5-acetonyl-barbitursäure	47,30	47,4 47,4	4,43	4,50
5-Acetonyl-5-(β-hydroxypropyl-γ-jodpropyl)-barbitursäure	32,62	32,6	3,56	3,48
5-Isopropyl-5(β-hydroxy-γ-jodpropyl)-barbitursäure	33,91	34,2	4,27	4,17
5-Isopropyl-5(3′-jodacetonyl)-barbitursäure	34,11	34,1	3,72	3,78
5-Isopropyl-5-(3′-o-p-dinitrophenylhydrazinacetonyl)-barbitursäure	45,50	45,5	4,30	4,12
5-Isopropyl-5-(β-hydroxypropyl)-barbitursäure	52,63	52,7	7,07	7,10

Zusammenfassung

Das vom Verfasser und *E. Sucharda* schon 1928 angewandte Prinzip, die durch das Verhalten der Substanz beim Erhitzen bewirkten Druckschwankungen im Verbrennungsrohre zum Zwecke der automatischen Regulierung der Vergasungsgeschwindigkeit der Substanz bei der Elementaranalyse auszunutzen, wurde bei der Konstruktion einer neuen, elektrisch betriebenen, automatischen Apparatur angewandt. Hierbei wird das mit der Substanz gefüllte Mikroschiffchen mittels eines elektrischen Hochfrequenzgenerators erhitzt. Der Stromzufluß zu dem Hochfrequenzgenerator wird durch die erwähnten Druckschwankungen ein- oder ausgeschaltet. Die Verbrennung verläuft dann bei praktisch konstantem Druck im Verbrennungsrohre, also auch bei konstantem Sauerstoffüberschuß. Die neue Apparatur wird an Hand beigefügter Abbildungen beschrieben. Als Absorptionsmittel für Stickstoffoxyde werden 1 bis 2 g Bleidioxyd in einem 12 cm langen Porzellanschiffchen bei 190° angewandt. Die Absorption des Wassers erfolgt durch wasserfreies Kobaltchlorid, die der Kohlensäure ausschließlich durch Ascarit. Die Sauerstoffgeschwindigkeit im Verbrennungsrohre beträgt 8 ml pro Minute. Bei Substanzen, die mehr als 10% N enthalten, wird zwischen den Kohlensäureabsorptionsapparat und den Wasserabsorptionsapparat ein mit Mangandioxyd gefüllter Apparat eingeschaltet.

Summary

The principle used by the author and *E. Sucharda* as early as 1928, which employs the variations in pressure in the combustion tube resulting from

the behavior of the substance when heated, for automatically regulating the rate of gasifying the substance was applied in the construction of a new electrically operated automatic apparatus. The micro boat charged with the sample is heated by means of a high frequency generator. The flow of current to the high frequency generator is switched on and off by the variations in pressure mentioned above. The combustion then proceeds at practically constant pressure in the combustion tube, and even when there is a constant excess of oxygen. The new apparatus is described in the accompanying figures. The nitrogen oxides are absorbed in 1 to 2 grams of lead dioxide contained in a porcelain boat (12 cm long) at 190°. The absorption of the water is by means of anhydrous cobalt chloride, while the carbon dioxide is taken up in ascarite. The speed of the oxygen in the combustion tube is 8 ml per minute. In the case of samples that contain more than 10% nitrogen, an apparatus filled with manganese dioxide is placed between the carbon dioxide absorber and the apparatus for taking up the water.

Résumé

Le principe de l'utilisation des variations de pression qui se produisent dans un tube à combustion en analyse élémentaire, lors du chauffage de la substance, a été utilisé dès 1928 par l'auteur et *E. Sucharda* pour la régulation automatique de la gazéification de cette substance. Il a été appliqué à la construction d'un nouvel appareil automatique commandé électriquement. La micronacelle qui contient la substance est chauffée électriquement à l'aide d'un générateur de courant de haute fréquence. Les variations de pression pendant la combustion provoquent l'ouverture ou la fermeture du circuit d'alimentation de ce générateur. Il en résulte que la combustion est effectuée à pression pratiquement constante ainsi qu'à excès d'oxygène constant. Ce nouvel appareil est décrit sur les figures de la publication.

On utilise 1 à 2 grammes de bioxyde de plomb disposés dans une nacelle de porcelaine de 12 cm de longueur, portée à 190° pour absorber les oxydes de l'azote. L'eau est absorbée par du chlorure de cobalt anhydre et l'anhydride carbonique exclusivement par de l'ascarite. Le débit du courant d'oxygène dans le tube de combustion est de 8 ml par minute. Pour les substances contenant plus de 10% d'azote, on intercale un absorbeur à bioxyde de manganèse entre l'absorbeur à anhydride carbonique et l'absorbeur à eau.

Literatur

[1] *A. Schöller*, Chem.-Ztg. **48**, 371 (1924).
[2] *F. Pregl*, Ber. dtsch. chem. Ges. **38**, 1434 (1905).
[3] *H. Reihlen*, Mikrochem. **23**, 285 (1938).
[4] *L. T. Hallet*, Ind. Engng. Chem., Analyt. Ed. **14**, 965 (1942).
[5] *R. O. Clark* und *G. H. Stillson*, Analyt. Chemistry **19**, 423 (1947).
[6] *K. Horeischy*, *I. Dreher* und *O. Hoffmann-Ostenhof*, Mikrochem. **33**, 221 (1947).
[7] *G. L. Royer*, *A. R. Norton* und *O. E. Sundberg*, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **12**, 688 (1940).
[8] *Al. Steyermark*, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **17**, 523 (1945).
[9] *W. Zimmermann*, Mikrochem. **31**, 149 (1943).
[10] *B. Bobrański*, Centigramowa analiza elementarna. Dissertation. Lwów. 1928.
[11] *B. Bobrański* und *E. Sucharda*, Roczn. Chem. 8, 290 (1928).

[12] *E. Sucharda* und *B. Bobrański*, Halbmikromethoden zur automatischen Verbrennung organischer Substanzen und ebullioskopischen Molekulargewichtsbestimmung, Sammlung Vieweg. H. 94, Braunschweig. 1929.

[13] *E. Sucharda* und *B. Bobrański*, Semimicromethods for the Elementary Analysis of Organic Compounds. London: Gallenkamp. 1936.

[14] *F. O. Fischer*, Analyt. Chemistry **21**, 827 (1949).

[15] *P. I. Elving* und *W. H. Mc. Elroy*, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **13**, 660 (1941).

[16] *A. H. Corvin*, Microchem. Section, 94th Meeting Amer. Chem. Soc., Rochester, N. Y. 1937.

[17] *A. Etienne* und *R. Mileur*, Ann. chim. analyt. **28**, 215 (1946).

[18] *E. C. Horning* und *M. G. Horning*, Analyt. Chemistry **19**, 688 (1947).

[19] *G. Ingram*, Analyst **73**, 348 (1948).

[20] *V. A. Klimowa*, *M. O. Korszun* und *E. G. Bereznickaja*, Dokl. Akad. Nauk SSSR **84**, 1175 (1952).

[21] *T. Mitsui*, Japan Analyst **2**, 3 (1953).

[22] *A. Dombrowski*, Mikrochem. **28**, 125, 136 (1940).

[23] *J. Irimescu* und *B. Popescu*, Z. analyt. Chem. **128**, 185 (1948).

[24] *C. Beatly*, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **15**, 476 (1943).

[25] *R. Belcher* und *G. Ingram*, Analyt. Chim. Acta **4**, 118 (1950).

[26] *R. Belcher* und *G. Ingram*, Analyt. Chim. Acta **4**, 401 (1950).

[27] *C. K. Cross* und *G. F. Wright*, Analyt. Chemistry **26**, 886 (1954).

[28] *G. Ingram*, J. Soc. Chem. Ind. **62**, 175 (1943).

[29] *J. Lindner*, Ber. dtsch. chem. Ges. **59**, 2561 (1926).

[30] *J. Lindner*, Ber. dtsch. chem. Ges. **63**, 1396 (1930).

[31] *J. Lindner*, Mikro-maßanalytische Bestimmung des Kohlenstoffes und Wasserstoffes mit grundlegender Behandlung der Fehlerquellen in der Elementaranalyse. Berlin: 1935. S. 133 bis 183.

[32] *B. Flaschenträger*, Z. angew. Chem. **39**, 720 (1926).

Neue Verbesserungen der qualitativen Schnellanalyse. II

Von

Alwin Schleicher, Aachen

(Eingelangt am 29. Mai 1956)

Nachdem bereits vor einiger Zeit der Inhalt eines Beitrages zur Mikrochemie-Tagung Wien 1955 bekanntgegeben wurde[1], hat Verfasser auf der Tagung selbst einen erweiterten Beitrag gebracht, da kurz vor der Tagung aus den Kreisen der Tagungsteilnehmer kritische Äußerungen zur Methode der qualitativen Schnellanalyse bekannt geworden waren[2]. Soweit diese Kritik grundsätzlicher Art war, soll darauf hier etwas ausführlicher erwidert werden, als dies in dem kurzen Referat während des Vortrages möglich war.

Diese Erwiderung betrifft vor allen Dingen die offenbar irrtümliche Vorstellung, daß es mit der neuen Methode möglich sei, jedes Kation und jedes Anion durch unbedingt spezifische Reaktionen selbst neben einem noch so großen Überschuß eines oder aller anderer zu erkennen. Wie weit dies praktisch möglich ist, haben *G. Charlot* und seine Mitarbeiter in der Einführung ihrer „Analyse qualitative rapide des cations" angegeben und findet sich daher auch in der deutschen Übersetzung dieses Buches[3]. Man kann zugeben, daß mit jener Vorstellung zwar ein Ideal der analytischen Chemie erreicht würde, diese aber anderseits zugleich den Charakter einer Kunst, eben der analytischen Kunst, einbüßen würde.

Neue Aufgaben und Ziele der qualitativen Analyse

Es besteht aber durchaus nicht die Aussicht, daß das Ideal so bald erreicht wird. Die Gefahr einer absolut kunstlosen Analyse ist nicht akut; vielmehr birgt die qualitative Schnellanalyse durch ihre Empfindlichkeitswerte die Möglichkeit, zu den Problemen der Spurensuche beizutragen und damit die qualitative Analyse vor neue Ziele und Aufgaben zu stellen.

Die Kenntnis der Elemente und die Möglichkeiten, sie zu erkennen, waren bisher das hauptsächliche Ziel der qualitativen Analyse. In dem Maße aber, wie sich die Lücken im periodischen System schlossen, war dieses Ziel erreicht. Die Auffindung bisher unbekannter Elemente erfolgte

anhand der Regelmäßigkeiten des Systems, aber es handelte sich dabei vor allen Dingen um ihre Auffindung in kleinsten Mengen. Beispielhaft war dafür die Auffindung des Rheniums durch *I.* und *W. Noddack* in den Dreissiger-Jahren dieses Jahrhunderts. Ihre Arbeiten sind heute vorbildlich für die Spurensuche, die den Einfluß kleinster Fremdelementmengen auf die Eigenschaften der reinen Stoffe und ihre Wirkung auf den Verlauf chemischer Vorgänge zu klären berufen ist. In diesem mikroanalytischen Problem ist ohne Zweifel das neue Ziel der qualitativen Analyse zu sehen.

Die Grenzwerte der Nachweisempfindlichkeit

Zur Lösung der so gestellten Aufgaben sind ohne Zweifel *Charlots* Konzentrationsangaben der Grenzwerte der Nachweisempfindlichkeit wichtig, sie dienen der Beurteilung einer Nachweisreaktion bzw. eines Reagens. Betrachtet man sie jedoch kinetisch-elektrochemisch, so stellen sie einen Spannungswert dar: sie sind Mindestwerte der Konzentration bzw. Höchstwerte der Spannung, die im Nachweisvorgang zu erreichen sind, da es sich bei den Vorgängen der qualitativen Analyse stets um das Konzentrationsgefälle handelt, dem das nachzuweisende Element als Ion durch die Nachweisreaktion unterliegt.

Wie weiterhin jeder elektro-analytische Vorgang nicht nur an seiner Spannungsänderung, sondern auch an seinem Stromverbrauch, seiner Stromstärke, verfolgt werden kann, so kann auch jede qualitativ analytische Reaktion einmal an der auftretenden Farbe oder Fällung und zum andern auch nach der Tiefe der ersteren oder nach der Menge des erzielten Niederschlages bewertet werden. Es sind also stets zwei Faktoren, die zur Geltung gebracht oder messend ausgewertet werden können und ihre physikalische Bedeutung ist die eines Intensitäts- und eines Kapazitätsfaktors einer Arbeitsgröße, nämlich der beim analytischen Vorgang geleisteten Arbeit. Wenn wir auch heute noch gewohnt sind, bei der qualitativen Analyse lediglich den Intensitätsfaktor des analytisch verwerteten Vorganges zu verwenden und bei der quantitativen Bestimmung nur denjenigen der Kapazität, so kann doch in allen schwierigeren Fällen, z. B. bei Trennungen, der eine Faktor ohne Beachtung oder Verwertung des anderen nicht zu einer befriedigenden Aussage führen.

Für die Güte eines analytischen Nachweises sowie einer analytischen Bestimmung ist somit nur die analytisch geleistete Arbeit bestimmend. Im Falle der qualitativen Analyse sind wir aber in der Lage, die Bewertung einer Methode, eines Verfahrens oder eines Reagens auf einen dritten Faktor zu begründen, nämlich die Dauer; dieser Faktor kann hier sehr unterschiedliche Werte annehmen und möge uns hier führen. Bewertet man nämlich eine Arbeitsgröße nach der Zeiteinheit, so gelangt man zu ihrer Leistung, hier also der analytischen Leistung.

Nach dem Verfahren von *Charlot* läßt sich eine qualitative Analyse in weit kürzerer Zeit zu Ende führen als nach dem bisherigen systematischen Analysengang; ihre Leistung ist also größer. Soweit sich ein Vergleich durchführen läßt, ist das spektrographische Verfahren das leistungsfähigste, da die Dauer seiner Durchführung die kürzeste ist. Der hier vollzogene Vergleich ist deshalb statthaft, weil alle drei Verfahren nach den Größen ihrer Empfindlichkeit und ihrer Spezifität unterschieden werden können. Das älteste der drei Verfahren trennt die Komponenten der Analysenprobe auf rein mechanischem Wege, das *Charlot*sche trennt nach der Spezifität der angewandten Reagenzien, während schließlich das physikalische Verfahren die Trennungsarbeit dem Prisma bzw. dem Gitter überläßt.

Die Allgegenwart der Elemente

Die Arbeiten zur Auffindung fehlender Elemente des periodischen Systems haben bekanntlich das genannte Forscherehepaar zu dem Begriff der Allgegenwart der Elemente geführt, und es hat aus seinen Arbeiten die Folgerungen gezogen, daß es schließlich möglich sein dürfte, alle Elemente in allen Stoffen nachzuweisen. Voraussetzung dazu ist allerdings, daß man die nachzuweisenden Elemente genügend anreichert und ihre Nachweisempfindlichkeit genügend hoch steigert. Man erkennt in diesen beiden Momenten die beiden Faktoren der analytischen Arbeit leicht wieder, sie sind auch für die Durchführung einer Spurensuche von ausschlaggebender Bedeutung.

Folgerungen und Forderungen

Das neue Ziel der qualitativen Analyse zwingt aber auch zu einer neuen Beschreibung eines Analysenergebnisses. Es wird in Zukunft nicht mehr genügen, nur die gefundenen Elemente nach ihrer Art aufzuzählen, sondern man wird zunächst alle Elemente aufzählen müssen, auf die man geprüft hat; denn der negative Ausfall einer Prüfung sagt ja nicht aus, daß das betreffende Element überhaupt nicht vorhanden sei, sondern nur, daß sein Grenzwert nicht überschritten wurde. Man kann dann versuchen, dies durch bessere Anreicherung und höhere Empfindlichkeit doch noch zu erreichen. Zum andern wird man auch versuchen können, einen angenäherten Wert der erreichten Konzentration zu ermitteln. In diesem Sinne geht die qualitative Analyse in eine Spurensuche über.

Zusammenfassung

Es wird gezeigt, daß die qualitative Schnellanalyse nicht zu einer Schematisierung der qualitativen Analyse führt, sondern diese vor neue Aufgaben stellt. Die durch die neue, *Charlot*sche Methode eingeführten Werte der Nachweisempfindlichkeit (Grenzkonzentrationen) geben die

Möglichkeit einer vergleichenden Bewertung der drei jetzt bekannten und gebräuchlichen Methoden des qualitativen Nachweises nach der von ihnen geleisteten Arbeit und der Leistung selbst. Sie führen wieder zum Problem der Allgegenwart der Elemente nach *I.* und *W. Noddack* und unterstreichen die Bedeutung der Spurensuche für die qualitative Analyse.

Summary

It is shown that qualitative rapid analysis does not lead to a schematization of qualitative analysis, but presents the latter with new problems. The values of the limits of identification, obtained by the new *Charlot* method (limiting concentrations) provide the possibility of a comparison evaluation of three known and employed methods of qualitative detection by the work performed by them and the accomplishment itself. They lead once more to the problem of the omnipresence of the elements according to *I.* and *W. Noddack* and emphasize the importance of trace analysis to qualitative analysis.

Résumé

L'auteur montre que l'analyse qualitative rapide ne conduit pas à une schématisation de l'analyse qualitative mais qu'elle la place devant de nouveaux problèmes. Les limites de dilution introduites dans la nouvelle méthode de *Charlot* donnent la possibilité d'étudier comparativement les trois méthodes d'identification qualitative utilisables actuellement connues d'après les résultats qu'elles permettent d'obtenir et ceux de la méthode rapide. Elles conduisent de nouveau au problème de l'omniprésence des éléments d'après *I.* et *W. Noddack* et mettent en évidence l'importance de la recherche des traces pour l'analyse qualitative.

Literatur

[1] *A. Schleicher*, Mikrochim. Acta [Wien] **1956**, 663.

[2] *W. Prodinger*, Österr. Chem.-Ztg. **56**, 112 (1955); *E. Pfeil*, Chem. für Labor. u. Betrieb **6**, 50 (1955).

[3] *A. Schleicher*, Qualitative Schnellanalyse, 2. Aufl. Berlin: de Gruyter. 1956.

Aus dem Institut für Biochemische Technologie und Lebensmittelchemie der Technischen Hochschule Graz und Fa. Paul Haack, Wien

Über die Genauigkeit von Mikromeßgeräten aus Glas und die Herstellung von Lösungen im Mikromaßstab

Von

G. Gorbach und **A. Haack**

Mit 2 Abbildungen

(Eingelangt am 7. Juni 1956)

Zum Abmessen von Flüssigkeiten und zur Herstellung von Lösungen bestimmter Konzentration sind in der chemischen Praxis seit langem Meßkolben verschiedener Größe in Gebrauch. Die mikrochemische Arbeitsweise war bisher auf kleine Meßkolben angewiesen, die mit Inhalten unter 10 ml hergestellt werden. Bei der Verwendung solch kleiner Meßkolben ergeben sich verschiedene Schwierigkeiten. Ihre Genauigkeit ist letzten Endes davon abhängig, wie genau man die Marke des Kolbenhalses einstellen kann. Nun ist es schon lange üblich, die Genauigkeit der Maßkolben für verschiedene Volumina dadurch konstant zu halten, daß man den Innendurchmesser des Kolbenhalses dem verkleinerten Inhalt entsprechend verkleinert. Nun hat aber diese Maßnahme bei kleinen Kolben bald ein Ende, da man engere Kolbenhälse als etwa 5 bis 6 mm aus praktischen Gründen nicht mehr verwenden kann. Dadurch sind Fehler beim Auffüllen zur Meßmarke unvermeidlich. Sie betragen, wie im folgenden noch näher erläutert wird, 0,22% bei 10 ml, bei 5-ml-Meßkölbchen 0,38% und steigen bei kleineren Kölbchen noch wesentlich an. Dabei darf nicht vergessen werden, daß solche Kolben meist nur unter Verwendung kleiner Trichter gefüllt und meist nur sehr schwer ohne Substanzverlust entleert werden können.

An Stelle dieser mangelhaften Meßeinrichtungen haben sich die von *F. Pregl*[1] seinerzeit vorgeschlagenen Präzisionsauswaschpipetten bewährt. Sie wurden ursprünglich nur für sehr kleine Flüssigkeitsmengen hergestellt, sind aber heute für 0,1, 0,2, 0,5, 1, 2, 5 und 10 ml erhältlich[1].

Wie schon der Name sagt, wird die Pipette durch ihren erweiterten Hals nach dem Abmessen der Flüssigkeit mit Hilfe eines kapillaren

Trichters ausgewaschen[2]. Sie kann deshalb auf Einguß geeicht werden, da der Benetzungsfehler wegen des Auswaschens unberücksichtigt bleiben kann. Der Pipettenkörper ist an der Stelle der Marke kapillar verengt, mit einem weißen Hintergrund und einer Millimetereinteilung versehen. Da auf jeden Millimeter dieser Teilung geeicht ist und aus dem Prüfschein der jedem Millimeter dieser Teilung entsprechende Rauminhalt abgelesen werden kann, ist es nicht nötig, auf eine bestimmte Marke einzustellen. Da auch die Spitze der Pipette kapillar verengt ist, stellt sich die Flüssigkeit bei einem spezifischen Gewicht von ungefähr 1,000 nach dem Aufsaugen automatisch auf eine der Marken ein. Die Flüssigkeit hält durch die kapillare Spitze so fest, daß man die Pipettenspitze zur Erhöhung der Genauigkeit mit Filtrierpapier abwischen kann. Da der Millimeterwert an der kapillar verengten Stelle Bruchteilen eines Mikroliters entspricht, erzielt man mittels dieser Präzisionsauswaschpipetten praktisch Fehlerfreiheit; denn die Abweichungen einzelner Pipettenfüllungen betragen höchstens 0,002 bzw. 0,001%.

Neben diesen Preglschen Auswaschpipetten sind im Institut des einen von uns schon seit langem zum Abmessen kleiner Flüssigkeitsmengen sogenannte „automatische Nullpunktpipetten" in Gebrauch. Sie stellen eine Weiterentwicklung der Auswaschpipette dar und haben keine Marke mehr, sondern an deren Stelle eine kapillare Verengung. Durch die besondere Form des Pipettenkörpers und der kapillaren Spitze füllen sich diese Pipetten selbsttätig beim Aufsaugen bis zur gleichen Marke, vorausgesetzt, daß auch hier die Flüssigkeit ein spez. Gewicht um 1,000 hat. Diese Pipetten werden durch Ausblasen entleert, sind auf wenige tausendstel Mikroliter genau und erlauben ein sehr rasches Arbeiten.

Die Nullpunktpipette wird schon bei der Erzeugung auf *Ausguß* geeicht, das heißt die zurückbleibende Benetzung ist berücksichtigt. Bei Einhalten der Verwendungsvorschriften kann die oben angeführte Genauigkeit leicht erreicht werden. Auch hier ist der Vorteil gegenüber den Vollpipetten augenfällig. So ist z. B. bei amtlich geeichten 5-ml-Vollpipetten ein Fehler von $\pm$ 0,01 ml zulässig, der aber nur durch sehr sorgfältiges Arbeiten erreicht wird, während er bei diesen Nullpunktpipetten ohne jede besondere Sorgfalt bei der Verwendung maximal $\pm$ 0,003 ml beträgt.

Um kleinere Flüssigkeitsmengen, besonders bei Serienbestimmungen, laufend mit großer Genauigkeit rasch zur Verfügung zu haben, kann auch die „automatische Serienpipette" gut verwendet werden[3]. *Hurka*[4] verwendete zur Herstellung von Maßflüssigkeiten eine automatische 10-ml-Serienpipette und erzielte eine Genauigkeit von $\pm$ 0,004%. Der Vorteil liegt auch hier darin, daß durch den sich automatisch einstellenden Nullpunkt jeder individuelle Ablese- und Einstellfehler ausgeschaltet ist.

Neben diesen Auswasch- und Nullpunktpipetten sind noch die Präzisionswägepipetten nach *F. Pregl* erwähnenswert, die, wie schon der Name sagt, nicht zum Abmessen, sondern zum Wägen von Flüssigkeiten, zur Dichtebestimmung dienen. Auch diese Pipetten sind auf *Einguß* geeicht, da ja nur die aufgesaugte Flüssigkeitsmenge in der Pipette gewogen wird.

Die Genauigkeit von Maßkolben verschiedener Größe veranschaulicht die Tabelle 1.

Tabelle 1

	Kolbeninhalt in ml								
	1	2	5	10	25	50	100	250
Max. Innendurchmesser des Halses nach Eichamtsvorschriften in mm	6	6	6	6	8	10	12	15
Zulässige Fehlergrenzen bei auf Einguß amtlich geeichten Kolben in ml	± 0,008	0,008	0,008	0,008	0,015	0,03	0,05	0,11
Das sind % des Gesamtvolumens	0,8	0,4	0,16	0,08	0,06	0,08	0,05	0,044
Innenweite des Kolbenhalses gemäß DIN 12662	—	—	—	—	7,5	9	11	13
Detto bei Mikrokolben	4,1	4,1	4,7	6	—	—	—	—
Angenommene Einstellfehler ± 0,2 mm in ml	0,0025	0,0025	0,003	0,006	0,009	0,013	0,02	0,027
Das sind % des Gesamtvolumens	0,25	0,13	0,065	0,06	0,036	0,026	0,02	0,018
Benetzung von Meßkolben, geeicht auf Einguß, bei Verwendung auf Ausguß in g H_2O	0,046	0,0239	0,0353	0,0408	0,0888	0,0824	0,1255	0,3737
Das sind % des Gesamtvolumens	4,6	1,4	0,7	0,4	0,3	0,16	0,13	0,15

Herstellen von Lösungen

Die eingangs beschriebenen Auswaschpipetten lassen sich an Stelle von Maßkolben zur Herstellung von Lösungen bestimmter Konzentration sehr gut verwenden. Die abgewogene Substanz wird hierbei in einem Teil des Lösungsmittels aufgelöst und mittels einer regulierbaren, vereinfachten Membranpumpe in die Pipette eingesaugt. Dann wird mit verschiedenen Lösungsmittelanteilen nachgewaschen und alle diese Anteile eingesaugt, bis die Marke erreicht ist.

Die Lösung in der Pipette wäre aber inhomogen, da die letzten eingesaugten Anteile nur mehr aus reinem Lösungsmittel bestehen. Vor Verwendung der Lösung muß sie homogenisiert werden. Sie wird daher in ein Schüttelgefäß abgelassen und geschüttelt, bis man eine einheitliche, schlierenfreie Lösung erhält.

Zum Aufsaugen der Flüssigkeit haben wir eine vereinfachte Membranpumpe entwickelt, nachdem sich deren Prinzip bei der Gorbachschen

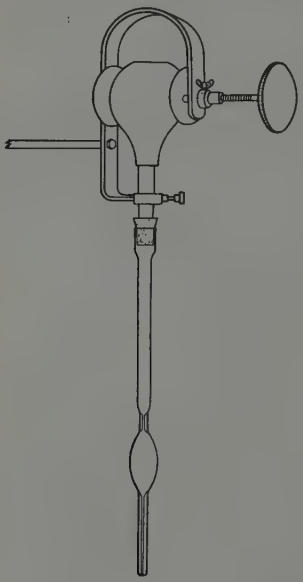


Abb. 1

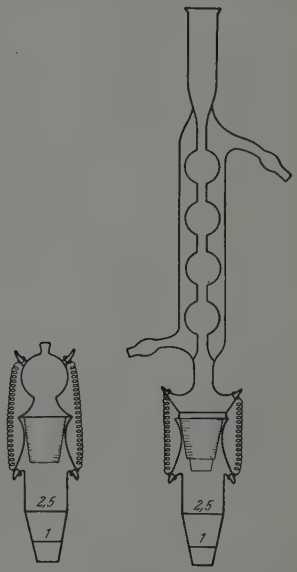


Abb. 2

Mikrobürette schon seit langem bewährt hat. Die Pumpe besteht aus einem kleinen Gummiballon, der mittels einer Mikrometerschraube und zweier Platten zusammengedrückt werden kann (Abb. 1). In den Gummiballon ist ein Glasröhrchen eingesetzt, an dessen Ende sich ein Gummistopfen befindet, der zum Hals der Auswaschpipetten paßt. Dieser ist unabhängig vom Pipetteninhalt stets gleich dimensioniert. Vor dem Füllen der Pipette wird zunächst der Gummiballon zusammengepreßt. Dies ist ohne Betätigung der Mikrometerschraube möglich, da sich diese in einer Hülse verschieben und fixieren läßt. Der beim Herausschrauben der Mikrometerschraube entstehende Unterdruck wird nun benützt, um die Lösung und danach die Waschflüssigkeit langsam einzusaugen. Beim

Entleeren wird die Mikrometerschraube im entgegengesetzten Sinne gedreht, das heißt der Gummiballon zusammengedrückt, wobei durch den entstehenden Druck die Flüssigkeit aus der Pipette entfernt wird.

Die zur Herstellung der Lösung verwendete Substanz wird im Wägegläschen oder in einem Lieb-Krainickschen Wägeröhrchen[5] abgewogen. Sehr rasch und bequem läßt sich diese Auswaage auch unter Verwendung der Einwägelöffelchen[2] auf der Torsionswaage nach *Gorbach*[2] durchführen.

Die Substanz führt man in einen Schliffspitzbecher über. Diese Schliffspitzbecher tragen entsprechende Marken, je nach dem Volumen, in dem nachher die Substanz gelöst werden soll (Abb. 2): Für ein Endvolumen von 2, 5, 10 ml je eine Marke bei 1, 3 bzw. 7 ml.

Man löst nun die Substanz durch Zugabe des Lösungsmittels bis zur entsprechenden Marke, eventuell, nach Verschluß mit einem passenden Schliffstopfen, unter Schütteln oder, nach Aufsetzen des passenden Rückflußkühlers, unter Erwärmen. Zum Nachwaschen ist die Spritzpipette[6] besonders geeignet. Durch Neigen kann diese mit bekannten Mengen an Lösungsmittel gefüllt und die Wandung des Gefäßes mit so vordosierten Lösungsmittelmengen nachgewaschen werden. Dadurch vermeidet man mit Sicherheit die Verwendung zu großer Lösungsmittelmengen beim Waschen. Nach unseren Erfahrungen genügen zumeist drei Waschungen. Zum Schluß saugt man bis zur Marke der Auswaschpipette mit dem Lösungsmittel nach. Dann wird die Lösung aus der Pipette in einen zweiten Spitzbecher passender Größe abgedrückt und wie bereits erwähnt homogenisiert. Da die Pipette für 20° C geeicht ist, müssen diese Operationen womöglich bei dieser Temperatur ausgeführt werden. Selbstverständlich lassen sich in gleicher Weise auch Auswaschpipetten von 0,5, 0,2 und 0,1 ml verwenden. Man verwendet dann kleine Spitzbecher[2] und zum Nachwaschen Kapillarpipetten.

Zusammenfassung

Zum Abmessen kleiner Flüssigkeitsmengen und zur Herstellung von Lösungen sind die im Handel befindlichen Mikromeßkolben von 10 ml und darunter ungeeignet.

An deren Stelle werden zweckmäßig die von *F. Pregl* eingeführten Präzisionsauswaschpipetten benützt. Die Einstellfehler der von 0,1 bis 10 ml passenden Pipetten betragen wegen der kapillaren Verengung der Meßmarke 0,002 bzw. 0,001% und können praktisch vernachlässigt werden. In Weiterentwicklung dieser Pipetten haben sich Nullpunktpipetten bewährt, in denen sich der Meniskus, soferne die Flüssigkeit ein spez. Gewicht von etwa 1,000 hat, automatisch auf den Nullpunkt einstellt. Der Einstellfehler beträgt maximal $\pm$ 3 Mikroliter. Diese Pipetten sind auf Ausguß geeicht.

Zur Herstellung von Lösungen bestimmter Konzentration haben sich die obgenannten Preglschen Auswaschpipetten in Verbindung mit einer einfachen Membranpumpe bewährt.

Summary

The micro measuring flasks now on the market are suited to the measurement of small volumes of liquid or for the preparation of solutions. In their place it is convenient to use the precision wash out pipettes introduced by *F. Pregl*. The adjustment errors of the pipettes with a capacity of 0.1 to 10 ml amount to 0.002 or 0.001 respectively by virtue of the capillary constriction and can be disregarded in practice. In the further development of these pipettes, null point pipettes have been found useful. In them the meniscus, provided the liquid has a specific gravity of around 1.000, is automatically adjusted to the null point. The adjustment error is $\pm$ 3 microliters at most. These pipettes are calibrated for delivery. The *Pregl* pipettes noted above, combined with a simple membrane pump, have proved useful when preparing solutions of definite concentration.

Résumé

Les microfioles jaugées de capacités inférieures ou égales à 10 ml que l'on trouve dans le commerce ne conviennent pas à la mesure de faibles volumes de liquides ou à la préparation de solutions. Il est commode de les remplacer par les pipettes de précision à rinçage (Präzisionsauswaschpipetten) introduites par *Pregl*. Les erreurs d'ajustement des pipettes de capacités variant de 0,1 à 10 ml sont de l'ordre de grandeur de 0,002 et même 0,001% du fait de l'étranglement capillaire au niveau du trait de mesure; on peut pratiquement les négliger. Dans une mise au point ultérieure on a obtenu d'excellents résultats avec des pipettes à zéro dont l'ajustement au zéro se réalise automatiquement dès qu'on les remplit d'un liquide dont le poids spécifique est voisin de 1.000. L'erreur d'ajustement atteint alors au maximum $\pm$ 3 microliters. Ces pipettes sont étalonnées par écoulement. On a également obtenu d'excellents résultats avec les pipettes à rinçage de *Pregl* associées à une simple pompe à membrane pour la préparation de solutions de concentrations déterminées.

Literatur

[1] *F. Pregl*, Quantitative organische Mikroanalyse, 6. Aufl., neubearbeitet von Dr. *H. Roth*. Wien: Springer-Verlag. 1949. S. 110.

[2] *G. Gorbach*, Mikrochemisches Praktikum. Graz: Selbstverlag. 1949.

[3] *F. Pregl*, Wr. klin. Wschr. **38**, 663 (1925); *F. Rappaport*, Mikrochemie des Blutes. Wien: E. Haim & Co. 1935. S. 1; *G. Gorbach*, Fette und Seifen **53**, 3 (1951); *A. Haack* und *G. Wieser*, Mikrochim. Acta [Wien] **1954**, 117.

[4] *W. Hurka*, Mikrochem. **32**, 11 (1944).

[5] *H. Lieb* und *H. G. Krainick*, Mikrochem. **9**, 367 (1931).

[6] *G. Gorbach*, Mikrochem. **34**, 183 (1948).

Aus dem Institut für allgemeine Chemie der Technischen Universität Budapest, Ungarn

Direkte Sauerstoffbestimmung in fluorhaltigen organischen Verbindungen

Von

Ladislaus Mázor

(Eingelangt am 13. Juni 1956)

Die direkte Bestimmung des Sauerstoffs nach *Schütze* und *Unterzaucher*[1-3] wird von Fluor gestört. In der Literatur[3-4] wird diese Tatsache bloß festgestellt, ohne den Grund der Störung zu erwähnen oder eine geeignete Methode zu deren Beseitigung anzugeben.

Diese Wirkung wurde auch von uns bei der Sauerstoffbestimmung in zahlreichen fluorhaltigen organischen Verbindungen beobachtet, da die erhaltenen Ergebnisse wesentlich höher waren als der theoretische Wert, und der Blindwert der Bestimmung erhöhte sich nach einigen Analysen schon wesentlich rascher als gewöhnlich. Wir stellten fest, daß die Störung darauf zurückzuführen ist, daß der bei der vollständigen pyrolytischen Zersetzung des organischen Moleküls entstehende Fluorwasserstoff mit der Quarzwand des Verbrennungsrohres und der die Kohlefüllung fixierenden Quarzwolle nach folgender Gleichung reagiert:

$$SiO_2 + 2\,H_2F_2 = SiF_4 + 2\,H_2O.$$

Das entstehende Wasser zersetzt sich an der glühenden Kohleschicht unter Bildung von Kohlenoxyd. Demgemäß werden eigentlich 2 Fluoratome gegen ein Sauerstoffatom ausgetauscht, das dann dasselbe Verhalten zeigt wie der aus dem organischen Molekül stammende Sauerstoff. Der Grund für die raschere Erhöhung des Blindwertes liegt darin, daß die glatte Oberfläche des Quarzrohres durch den Fluorwasserstoff korrodiert wird, wodurch die Reaktion zwischen Siliciumdioxyd und Kohle in gesteigertem Maße vor sich geht.

Nach unseren Versuchen verläuft die Reaktion zwischen Siliciumdioxyd und Fluorwasserstoff unter den gegebenen Bedingungen beinahe stöchiometrisch (s. Tabelle 1).

Tabelle 1

Verbindung	% Sauerstoff		Mittelwert
	ber.	gef.	
Fluoracetanilid C_8H_8NOF	10,44	13,91	
		15,91	15,75
		17,45	
Fluoressigsäureamid C_2H_4NOF	20,64	26,07	
		26,16	26,44
		27,10	
Difluordiphenylketon $C_{13}H_8OF_2$	7,47	13,46	
		14,15	13,99
		14,36	

Wollte man den scheinbaren Sauerstoffgehalt der einzelnen Verbindungen so berechnen, daß für jedes Fluoratom ein halbes Sauerstoffatom in Rechnung gestellt wird, so ergäben sich bei Fluoracetanilid 15,66%, bei Fluoressigsäureamid 31,15% und bei Difluordiphenylketon 14,97% Sauerstoff. Obwohl diese Werte mit dem tatsächlich bei der Analyse erhaltenen Sauerstoffgehalt größenordnungsmäßig übereinstimmen (Tabelle 1), genügt diese Berechnungsweise zur genauen Bestimmung des Sauerstoffgehaltes jedoch nicht. Deswegen ergab sich die Notwendigkeit, ein neues Verfahren zur Beseitigung der störenden Wirkung des Fluors auszuarbeiten.

In der organischen Elementaranalyse werden die störenden Elemente gewöhnlich schon vor der Rohrfüllung in Form hitzebeständiger Verbindungen, die Halogene z. B. in Form ihrer Silbersalze, gebunden. Zur Bindung des Fluors eignet sich das Silber jedoch nicht, da sich Silberfluorid leicht zersetzt. Andere Metalle dagegen, deren Fluoride beständig sind, sind deswegen nicht anwendbar, weil sie sich auch mit Sauerstoff gerne verbinden. Im Laufe unserer Versuche wurde unsere Aufmerksamkeit auf die Metallnitride gelenkt. Diese schienen für den gewünschten Zweck geeigneter, da zu erwarten stand, daß sie den an solche Reagenzien zu stellenden Anforderungen weitgehend entsprechen. Sie dürfen nämlich beim Erhitzen keinen Sauerstoff oder andere, die Bestimmung störende Substanzen abgeben, keinen Sauerstoff binden, sollen aber mit Fluor unter Bildung hitzebeständiger Verbindungen quantitativ reagieren. Bei Berührung mit den Wänden des Quarzrohres sollen diese nicht angegriffen werden. Die am schwersten erfüllbare Anforderung ist, daß ein solches Reagens den in den Pyrolysegasen vorhandenen Fluorwasserstoff quantitativ binden muß, ohne dabei aber mit dem ebenfalls anwesenden Sauerstoff bzw. Wasserdampf zu reagieren.

In Kenntnis der Literaturangaben über Metallnitride[5] nahmen wir an, daß für unsere Zwecke Magnesiumnitrid (Mg_3N_2) am geeignetsten

wäre, da sich daraus in Stickstoffatmosphäre bei einer gleichen Fluorwasserstoff- und Sauerstoffkonzentration, bzw. Wasserdampfkonzentration leichter Magnesiumfluorid als Magnesiumoxyd bildet. Unsere Versuche bekräftigten unsere diesbezüglichen Annahmen.

Magnesiumnitrid läßt sich aus den Elementen leicht herstellen. Für unsere Versuche wurde es folgendermaßen bereitet: Ein Porzellanschiffchen wurde mit Magnesiummetallspänen beschickt und im Rohrofen in einem sauerstoff- und feuchtigkeitsfreien Stickstoffstrom eine Stunde lang auf 800 bis 900° C erhitzt. Die aus dem abgekühlten Ofen entnommene Substanz wurde rasch gepulvert, in das Porzellanschiffchen zurückgebracht und in Stickstoffatmosphäre weitere 30 Minuten lang erhitzt. Dieses wiederholte Erhitzen ist notwendig, damit im Inneren der einzelnen Magnesiumnitridteilchen kein Metall zurückbleibt. Es wurde nämlich beobachtet, daß, falls das Magnesiumnitrid freies Magnesium als Verunreinigung enthält, es bei der Sauerstoffbestimmung nicht nur Fluor, sondern auch Sauerstoff bindet.

Das grüngelbliche, grobkörnige Magnesiumnitridpulver wurde vor Luft und Feuchtigkeit gut verschlossen aufbewahrt. Es zersetzt sich erst bei 1150° C und bindet den Fluorwasserstoff schon in der Kälte nach folgender Gleichung:

$$Mg_3N_2 + 3\,H_2F_2 = 3\,MgF_2 + 3\,H_2 + N_2.$$

Da sich Magnesiumfluorid nur bei sehr hohen Temperaturen (2260° C) zersetzt und die gasförmigen Produkte der angeführten Reaktion auf die Bestimmung nicht störend einwirken, war anzunehmen, daß Magnesiumnitrid zur Bindung des Fluorwasserstoffes mit gutem Erfolg herangezogen werden kann.

In das Quarzrohr der Sauerstoffbestimmungs-Apparatur[6] wurde eine 10-mm-Schicht von Magnesiumnitrid in den vorderen Teil der Rohrfüllung so eingeführt, daß sie von der strahlenden Wärme des auf 1120° C erhitzten Ofens auf einige 100° erhitzt wird. Silberwolle diente zur Fixierung des Magnesiumnitrids an dieser Stelle. Die Rohrfüllung bestand aus folgenden Teilen: 10 mm Silberwolle, einer 10 mm langen Magnesiumnitridschicht (von 0,1 bis 0,2 mm Korngröße), abermals 10 mm Silberwolle, 20 mm Quarzwolle, einer 100 mm langen Kohleschicht und schließlich einer 30 mm langen Quarzwolleschicht in der angegebenen Reihenfolge. Das Rohr wurde in den Ofen so eingelegt, daß die zweite Silberwolleschicht von der Ofenwärme auf etwa 500 bis 600° C erhitzt wird und durch ihre gute Wärmeleitfähigkeit die einige 100° betragende Temperatur der Magnesiumnitridschicht sichert.

Die Bestimmung wird in üblicher Weise durchgeführt. Das die zu untersuchende Substanz enthaltende Platinschiffchen wird bis auf 30 bis 40 mm an die Rohrfüllung herangebracht. Der bewegliche Ofen wird

langsam auf eine Entfernung von 10 mm dem Schiffchen genähert und die Substanz nach vollständiger Sublimation oder Verdampfung allmählich in die Silberwolle getrieben, worin sie sich gleichmäßig verteilt und sodann in die Magnesiumnitridschicht destillert.

Nach Durchführung einiger Bestimmungen entsteht an der Wand des Quarzrohres um die Magnesiumschicht ein aus elementarer Kohle bestehender glänzendschwarzer Überzug. An dieser Stelle des Rohres konnte eine stärkere Korrosion als üblich nicht beobachtet werden. Die Magnesiumnitridschicht reicht für ungefähr 30 Bestimmungen aus.

Mit Hilfe der beschriebenen Methode wurde der Sauerstoffgehalt einiger einfacher fluorfreier, aber auch fluorhaltiger Kohlenstoffverbindungen bestimmt. Die erhaltenen Ergebnisse sind der Tabelle 2 zu entnehmen.

Tabelle 2

Verbindung	% Fluor ber.	% Sauerstoff		Δ %
		ber.	gef.	
Salicylsäure $C_7H_6O_3$	—	34,75	34,15	—0,60
			34,47	—0,28
			34,20	—0,55
Acetanilid C_8H_9NO	—	11,84	12,27	+0,43
			12,72	+0,88
			12,15	+0,31
Fluoracetanilid C_8H_8NOF	12,41	10,44	10,62	+0,18
			9,98	—0,46
			10,10	—0,34
Fluoressigsäureamid C_2H_4NOF	24,62	20,64	20,05	—0,59
			19,92	—0,72
			20,11	—0,53
Difluordiphenylketon $C_{13}H_8OF_2$	17,82	7,47	7,85	+0,38
			7,42	—0,05
			7,90	+0,43

Wie aus den Ergebnissen ersichtlich, läßt sich bei der Analyse fluorfreier Stoffe auch unter Anwendung der beschriebenen Rohrfüllung der bei der Sauerstoffbestimmung übliche Fehler beobachten[6]; Stoffe mit höherem Sauerstoffgehalt liefern etwas zu tiefe, solche mit niedrigerem Sauerstoffgehalt etwas zu hohe Ergebnisse. Derselbe Fehler läßt sich auch bei fluorhaltigen Substanzen beobachten, ohne daß der Fluorgehalt jedoch den Fehler der Bestimmung beeinflußt.

Zusammenfassung

Die Sauerstoffbestimmung in fluorhaltigen organischen Verbindungen läßt sich nicht in üblicher Weise durchführen, da der bei der pyrolytischen

Zersetzung der Substanz entstehende Fluorwasserstoff mit dem Quarz reagiert, dessen Sauerstoff zur Kohlenoxydbildung führt, so daß zu hohe Resultate erhalten werden. Diese störende Wirkung kann beseitigt werden, indem man in das Verbrennungsrohr eine Magnesiumnitridschicht einbringt, wodurch das Fluor in hitzebeständiger Form gebunden wird.

Summary

The determination of oxygen in organic compounds containing fluorine cannot be accomplished by the usual procedure, because the hydrogen fluoride resulting from the thermal decomposition of the sample reacts with the quartz, whose oxygen leads to the formation of carbon monoxide with the result that too high results are obtained. This interference can be averted by introducing a layer of magnesium nitride into the combustion tube. The fluorine is thus bound in a heat-stable compound.

Résumé

Il n'est pas possible d'effectuer le dosage de l'oxygène dans les composés organique fluorés par application de la technique courante; l'acide fluorhydrique qui se forme lors de la décomposition pyrolytique de la substance réagit en effet avec le quartz dont l'oxygène donne naissance à de l'oxyde de carbone, ce qui donne lieu à des résultats trop élevés. Il est possible d'éliminer cet effet perturbateur en introduisant dans le tube de combustion une couche de nitrure de magnésium qui retient le fluor sous forme d'une combinaison stable à température élevée.

Literatur.

[1] *M. Schütze*, Z. analyt. Chem. **118**, 241 (1939).
[2] *J. Unterzaucher*, Ber. dtsch. chem. Ges. **73**, 391 (1940).
[3] *J. Unterzaucher*, Analyst **77**, 584 (1952).
[4] *F. Pregl*, Quantitative organische Mikroanalyse, 6. Aufl., neubearbeitet von Dr. *H. Roth*. Wien: Springer-Verlag. 1949. S. 84.
[5] *Gmelin's* Handbuch der Elemente: Magnesium, Teil B. S. 68 (1938).
[6] *L. Mázor*, Magyar Kémikusok Lapja **3**, 77 (1955).

Aus dem Institut für analytische Chemie der Technischen Hochschule für Chemie, Pardubice, ČSR

Mikronachweis des Kohlenstoffes in organischen und anorganischen Verbindungen mittels Magnesiumaufschlusses*

Von

M. Jureček und **M. Nepraš**

Mit 1 Abbildung

(Eingelangt am 19. Juni 1956)

In einer vorläufigen Mitteilung[2] wurde das Prinzip eines neuen Verfahrens zum Mikrokohlenstoffnachweis in organischen sowie anorganischen Verbindungen angeführt. Es beruht auf der Bildung von Magnesiumcarbid beim Glühen der Substanz mit Magnesiumpulver. Das durch Zersetzung des Reaktionsproduktes mit verd. Säure gebildete Allylen wird mit Kupfer(I)-salzlösung nachgewiesen.

Während der Entwicklung des Arbeitsganges wurden einige Verbesserungen durchgeführt, die eine Erhöhung der Verläßlichkeit und Empfindlichkeit des Nachweises zum Ziele hatten. Das mit Ilosvayschem Reagens getränkte Papier wurde durch ein mit eingelegter Spirale versehenes Reagensglas ersetzt, um die Berührungsdauer der Gase mit dem Reagens zu verlängern. Dem Reagens wurde ein Schutzkolloid zugesetzt, um die geringsten Spuren Allylen wahrnehmbar zu machen. In dem mit einer Spirale versehenen Reagensglas verläuft die Absorption des Allylens quantitativ; dagegen wurde das Allylen auf dem Reagenspapier nur zum Teil erfaßt. Bei Anwesenheit von Kohlenstoff in der Probe färbt sich das Reagens durch Bildung des kolloidalen Kupferallylenids violett.

Bei den ersten Versuchen verursachte die vollständige Beseitigung des Schwefelwasserstoffes bei Substanzen mit hohem Schwefelgehalt Schwierigkeiten. Besonders bei heftiger Zersetzung des Reaktionsproduktes mit Säure kam es manchmal vor, daß der mit Quecksilber-

* IV. Mitteilung über Magnesiumaufschluß organischer Verbindungen. III. Mitteilung s. Literatur [1].

chlorid getränkte Bimsstein den Schwefelwasserstoff zum Teil durchließ, wodurch das Versuchsergebnis wertlos wird. Daher wurde versucht, den Schwefelwasserstoff auf andere Weise zu binden. Am besten bewährte sich ein mit alkalischer Wasserstoffperoxydlösung befeuchtetes, mit Glasperlen gefülltes U-Rohr, das zwischen dem Zersetzungskolben und die Absorptionseprouvette geschaltet wurde.

Die alkalische Wasserstoffperoxydlösung hält auch die aus dem Glas des Aufschlußröhrchens stammenden flüchtigen Siliciumverbindungen vollständig zurück. Dagegen gelang es nicht, Phosphorwasserstoff und

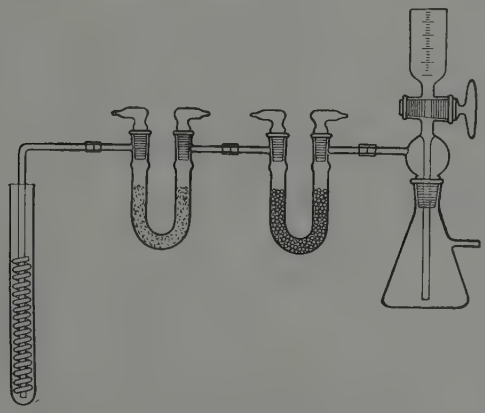


Abb. 1. Apparat zum Kohlenstoffnachweis

Arsenwasserstoff auf diese Weise vollständig zu beseitigen. Für diesen Zweck erwies sich mit Quecksilberchlorid imprägnierter, in ein U-Rohr gefüllter Bimsstein als am besten geeignetes Absorptionsmittel.

Methodik

Apparative Behelfe

Der Apparat zum Kohlenstoffnachweis (Abb. 1) besteht aus drei Teilen: dem Zersetzungskolben, der Reinigungsvorrichtung und der Absorptionseprouvette. Der Zersetzungskolben mit Schliff (NS 14,5) hat einen Inhalt von 100 ml. Seitlich ist ein kurzes Einleitungsrohr für den Stickstoff angeschmolzen. In den Kolbenhals wird ein eingeschliffener Hohlstöpsel eingesetzt, in den einerseits das Ablaufrohr eines Tropftrichters (Inhalt 15 ml) eingeschmolzen und an den anderseits ein Ableitungsrohr für die Gase angeschmolzen ist. Die Reinigungsvorrichtung besteht aus zwei U-Rohren. Das erste enthält mit alkalischer Wasserstoffperoxydlösung befeuchtete Glasperlen, das zweite mit Quecksilber-

chlorid getränkten Bimsstein. Die Absorptionseprouvette hat einen Durchmesser von 15 mm und eine Länge von 160 mm. In das Reagensglas wird eine Glasspirale von 80 mm Länge eingelegt. Durch die Spiralachse ragt die Einleitungsröhre fast bis zum Boden. Die Einzelteile des Apparates werden mit Vinidurschläuchen (Glas an Glas) verbunden.

Aufschlußröhrchen nach *Zimmermann*[3] (Außendurchmesser 7 mm, Innendurchmesser 5 mm, lichte Weite 70 mm).

Reagenzien

Magnesiumpulver („pro analysi");

Alkalische Wasserstoffperoxydlösung: 20 ml 2-n Natronlauge werden mit 3 ml 30%igem Wasserstoffperoxyd vermischt. In das mit Glasperlen gefüllte U-Rohr gibt man so viel Lösung, daß die Flüssigkeit die Biegung des Rohres ausfüllt.

Bimsstein, mit Quecksilberchlorid imprägniert: Granulierter Bimsstein (Korngröße 1 bis 2 mm) wird mit einer warmgesättigten $HgCl_2$-Lösung in 10%iger Salzsäure getränkt und bei Zimmertemperatur getrocknet.

Reagens nach Ilosvay: 1 g krist. Kupfersulfat (Pentahydrat) wird im 50-ml-Maßkölbchen in etwa 20 ml Wasser gelöst und mit 4 ml konz. wäßriger Ammoniaklösung und 3 g Hydroxylaminhydrochlorid versetzt. Nach dem Lösen und Entfärben setzt man 5 ml 0,5%iger Gelatinelösung zu und füllt zur Marke auf. Das Reagens ist gleich gebrauchsfertig. Es empfiehlt sich, das Reagens jeweils frisch herzustellen.

Stickstoff (Reinheitsgrad 99,5%).

Ausführung des Nachweises

Der Aufschluß: Auf den Boden des Aufschlußröhrchens gibt man 1 bis 2 mg oder ein Mikrotröpfchen der getrockneten Substanz, vermischt mit einer etwa 5 mm hohen Schicht Magnesiumpulver und überschichtet mit 30 mm Magnesiumpulver. Flüchtige Flüssigkeiten werden in ein auf einer Seite mit einem Stiel versehenes und auf der anderen Seite in eine haarfeine Kapillare ausgezogenes Mikrowägekölbchen eingesaugt. Vor dem Einbringen in das Aufschlußröhrchen bricht man die Kapillare ab und läßt das Mikrokölbchen (mit der Spitze voran) in das Röhrchen eingleiten. Dann schüttet man eine 40 mm hohe Schicht Magnesiumpulver auf. Das Ende des Aufschlußröhrchens zieht man zu einer Kapillare aus. Der Aufschluß wird in der von *Schöniger*[4] angegebenen Weise vorgenommen und die Kapillare sogleich zugeschmolzen. Beim Verarbeiten flüchtiger Substanzen ist darauf zu achten, daß die Substanz nicht vorzeitig verdampft, ehe die obere Schicht des Magnesiums glüht. Deshalb sind die obenerwähnten Mikrokölbchen vorteilhafter als gewöhnliche

Kapillaren, die zur Einwaage flüssiger Proben bei der Elementaranalyse dienen, denn die Substanz befindet sich dann näher dem Boden des Aufschlußröhrchens. Während des Aufschlusses soll man auf Verbindungen mit Kristallwasser achten, die bei dem Erhitzen mit Magnesium unerwünschte Explosionen verursachen.

Die Zersetzung des Reaktionsproduktes und der Nachweis des Allylens: Nach dem Erkalten zerdrückt man das Aufschlußröhrchen in einer Achatschale und bringt das Reaktionsprodukt mit den Scherben in den trockenen Zersetzungskolben. Hierauf stellt man den Apparat zusammen. Die Absorptionseprouvette füllt man mit 5 ml Ilosvayschem Reagens. Zum Reaktionsprodukt läßt man aus dem Tropftrichter 5 bis 10 ml Wasser zufließen und treibt darauf Stickstoff durch den Apparat (1 bis 2 Blasen in der Absorptionseprouvette pro Sekunde). Nach 3 bis 5 Minuten drückt man aus dem Tropftrichter mit Hilfe eines Kautschukballons verd. Salzsäure tropfenweise in den Kolben; die Blasenfrequenz in der Absorptionseprouvette soll dabei nicht allzusehr ansteigen. Insgesamt werden 5 bis 10 ml Säure zugesetzt. Es ist nicht notwendig, daß alles Magnesium gelöst wird. Im positiven Falle verfärbt sich das Ilosvaysche Reagens binnen 5 Minuten violett. Während des weiteren Durchblasens verstärkt sich die Färbung. Im negativen Falle bleibt das Reagens bis zu 5 Minuten farblos, bei längerem Durchblasen färbt es sich manchmal schwach bräunlich.

Für den nächsten Versuch ersetzt man den Kolben durch einen neuen und spült inzwischen die Reinigungsvorrichtung einige Minuten mit Stickstoff aus. Zur Kontrolle, ob alles Allylen beseitigt wurde, schaltet man an das Ende ein gerades Röhrchen mit Glaswolle, die mit Ilosvayschem Reagens befeuchtet wird.

Ergebnisse

Der oben beschriebene Arbeitsgang wurde an 50 organischen und 15 anorganischen Verbindungen erprobt. Die organischen Substanzen gehörten verschiedenen Körperklassen an; einige enthielten außer Kohlenstoff (Wasserstoff und Sauerstoff) auch Stickstoff, Halogene, Schwefel, Phosphor und Arsen. In allen Fällen war der Kohlenstoffnachweis eindeutig positiv. Auch bei verhältnismäßig kleinem Kohlenstoffgehalt (Oxalsäure, Harnstoff) war die Reaktion stark positiv, ohne daß es notwendig gewesen wäre, die Probemenge über 2 mg zu erhöhen. Der Nachweis wurde auch nicht durch einen ziemlich hohen Gehalt solcher Elemente beeinträchtigt, die bei der Verarbeitung des Aufschlußproduktes störende Gase liefern (Thioharnstoff).

Von den anorganischen Verbindungen gaben Carbonate, Cyanide und Rhodanide eine positive Reaktion, während Chloride, Sulfate, Phosphate, Arsenate, Borate und Silicate negative Ergebnisse lieferten.

Zusammenfassung

Es wird ein spezifischer Mikronachweis des Kohlenstoffes in organischen und anorganischen Verbindungen beschrieben. Das Verfahren besteht in der teilweisen Überführung des Kohlenstoffes in Magnesiumcarbid durch Glühen der Substanz mit Magnesiumpulver. Das durch Zersetzung des Reaktionsproduktes mit Säure gebildete Allylen wird mit dem Reagens von *Ilosvay* nachgewiesen. Die aus schwefel-, phosphor- oder arsenhaltigen Verbindungen und aus dem Silicium bzw. Bor des Aufschlußröhrchens stammenden Hydride dieser Elemente werden mit alkalischer Wasserstoffperoxydlösung und mit $HgCl_2$-getränktem Bimsstein entfernt, da sie den Kohlenstoffnachweis stören würden.

Summary

A description is given of a specific micro test for carbon in organic and inorganic compounds. The procedure consists in the partial conversion of the carbon into magnesium carbide by ignition of the sample with magnesium powder. The allylene obtained by reaction of the product with acids was identified by means of the *Ilosvay* reagent. The hydrides of sulfur, phosphorus, or arsenic coming from the sample, or the boron and silicon hydrides derived from the decomposition tube, were removed by means of alkaline hydrogen peroxide solution and pumice soaked with mercuric chloride, since these hydrides would impair the detection of carbon.

Résumé

Description d'une méthode d'identification spécifique du carbone à l'échelle microanalytique dans les combinaisons organiques et minérales. Le procédé repose sur la transformation partielle du carbone en carbure de magnésium par chauffage de la substance au rouge avec de la poudre de magnésium. L'allylène qui se forme lors de la décomposition des produits de réaction en présence d'acide est caractérisé par le réactif d'*Ilosvay*. Les hydrures susceptibles de se former avec le soufre, le phosphore ou l'arsenic contenus dans les combinaisons examinées ou avec le silicium ou le bore provenant du verre du tube d'attaque sont éliminés à l'aide d'une solution alcaline d'eau oxygénée et de ponce imbibée de chlorure mercurique; ils ne perturbent donc pas l'identification du carbone.

Literatur

[1] *M. Jureček* und J. *Jeník*, Chem. listy **50**, 84 (1956).
[2] *M. Jureček*, Mikrochim. Acta [Wien] **1955**, 1088.
[3] *W. Zimmermann*, Mikrochem. **33**, 122 (1948).
[4] *W. Schöniger*, Mikrochim. Acta [Wien] **1954**, 74; **1955**, 44.

Universidad Nacional de La Plata, Argentina, Facultad de Química y Farmacia, Cátedra de Toxicología y Química Legal

Estudios sobre acidos hidroxámicos

VII. Reconocimiento específico de ésteres fórmicos, su investigación en mezclas, especialmente con otros ésteres carboxílicos*

Por

Omar A. Guagnini y Eugenio E. Vonesch

(Recibido el 17 de julio de 1956)

El reconocimiento de los ésteres fórmicos en presencia de otros ésteres, así como en mezclas complejas, carece de técnicas específicas directas. Las reacciones funcionales detalladas son genéricas y se basan en la saponificación, la transesterificación[12], o en la conversión del radical carboxílico en una amida, una beta-oxietilamida[11], una hidracida[13] o en un derivado hidroxámico[2,5,6,7,9]. Con éstos métodos el reconocimiento de los ésteres fórmicos en presencia de otros ésteres carboxílicos iso o heterólogos, presenta evidentes dificultades, requiriendo una posterior reacción confirmatoria para llegar a la especificidad. Para cantidades de ésteres fórmicos del orden de 2 a 10 μg, puede efectuarse el reconocimiento, con los inconvenientes anotados, mediante la producción del formohidroxamato férrico, según el método preparativo general de ácidos hidroxámicos[4,15]. La particular reactividad de los ésteres fórmicos, observada en la preparación del ácido formohidroxámico, nos llevó a estudiar las condiciones necesarias para hacer específica la reacción de hidroxilaminolisis de sus ésteres[8]. Se propone en el presente trabajo una técnica que permite realizar el reconocimiento específico de microcantidades de ésteres fórmicos, fundada en su conversión en ácido formohidroxámico, mediante la hidroxilaminolisis en medio hidro-alcohólico amoniacal. En las condiciones establecidas, no son causa de error los otros ésteres carboxílicos, ni la mayor parte de las sustancias cuyos grupos funcionales reaccionan con la hidroxilamina en medio alcalino de hidróxido o carbonato de sodio o potasio. El método permite reconocer el radical formilo

* Presentado en la 8as Sesiones Químicas Argentinas. La Plata, V, 1956.

proveniente de ésteres fórmicos, en diluciones de una parte por millón, con una sensibilidad de 5 μg, sin la afectación de cantidades de mil a diez mil veces superiores de otros ésteres.

Parte experimental

Reactivos

A. Muestra: Solución etanólica de éster fórmico en concentración de 1 a 0,1 por mil.

B. Solución reactivo de hidroxilamina, aproximadamente molar. Se la prepara disolviendo 0,1 mol (7 g) de clorhidrato de hidroxilamina en 85 ml de etanol de 70%, se le agrega 8 a 10 gotas de solución etanólica al 0,5% de fenolftaleína y añade hidróxido de sodio al 40% hasta alcalinidad. Se decolora la fenolftaleína con gotas de ácido clorhídrico diluido y completa con agua destilada a 100 ml. El reactivo se mantiene estable por más de dos meses.

C. Hidróxido de amonio 0,5 *N*, aproximadamente.

D. Solución concentrada de perclorato férrico. Se la prepara por disolución a suave calor de 0,8 g de hierro porfirizado (p. a.), en 10 ml de ácido perclórico al 70%, agregando a continuación 10 ml de agua destilada y finalmente etanol de 95% hasta completar 100 ml.

E. Solución reactivo de perclorato férrico. Tomar 5 ml de D y 10 ml de ácido perclórico al 70%, llevar hasta 100 ml con etanol de 95%.

Técnica

Tomar en un tubo de ensayos de 0,5 a 2 ml de A, agregar 0,4 ml de B y gotas de C hasta viraje al rosado de la fenolftaleína. Después de 10 minutos, a temperatura ambiente, agregar 2,5 a 3 ml de E y mezclar. Durante la adición del reactivo E se observa primero un precipitado de hidróxido férrico que prontamente se disuelve. En presencia de un éster fórmico, aparece luego una coloración rojo-violada característica del formohidroxamato férrico. En ausencia de ésteres fórmicos, el líquido queda incoloro o ligeramente amarillento. El tiempo de la hidroxilaminolisis no debe extenderse del plazo establecido.

Resultados

Esteres fórmicos

Se ensayaron con resultado positivo, los siguientes ésteres:

Formiato de etilo	Formiato de linalilo
Formiato de isopropilo	Formiato de citronelilo
Formiato de isobutilo	Formiato de terpenilo
Formiato de isoamilo	Formiato de ciclohexanilo
Formiato de octilo n	Formiato de bencilo
Formiato de geranilo	Formiato de feniletilo

Esteres carboxílicos no fórmicos

Con la misma técnica los ésteres carboxílicos a continuación detallados, dan resultado negativo:

Acetato de metilo (1%)
Acetato de etilo (1%)
Acetato de isopropilo (1%)
Acetato de butilo (1%)
Acetato de amilo (1%)
Acetato de hexilo (1%)
Acetato de bencilo (0,5%)
Acetato de monometil eter del butilenglicol 1—3 (1%)
Propionato de etilo (1%)
Butirato de metilo (2%)
Butirato de etilo (2%)
Butirato de amilo (2%)
Butirato de feniletilo (2%)
Butirato de cinamilo (2%)
Valerianato de etilo (3%)
Valerianto de ciclohexanilo (3%)
Pelargonato de etilo (3%)
Capronato de etilo (3%)
Enantato de etilo (3%)
Benzoato de metilo (2%)
Benzoato de bencilo (2%)
Benzoato de naftilo (2%)
Fenilacetato de etilo (2%)
Fenilacetato de butilo (3%)
Cinamato de etilo (1%)
Cinamato de amilo (1%)
Cinamato de bencilo (1%)
Cinamato de linalilo (2%)
Ftalato de dimetilo (3%)
Ftalato de dietilo (5%)

Las cifras entre paréntesis significan la concentración empleada.

Mezclas de ésteres fórmicos con otros ésteres carboxílicos

A fin de verificar la utilidad de la técnica en la resolución del importante problema analítico, cual es la identificación de los ésteres fórmicos en presencia de otros ésteres carboxílicos, y particularmente en el caso de las diferentes mezclas de ésteres volátiles, constituyentes principales de las esencias y aromatizantes, se procedió a ensayar diversas mezclas de ésteres fórmicos con otros ésteres. Se consideraron preferentemente los acetatos, ya que en concentraciones superiores al 1% y en una reacción de hidroxilaminolisis prolongada, originan derivados hidroxámicos. En el cuadro No. I, se detallan los resultados obtenidos con una mezcla de formiato y acetato de metilo, con el objeto de comprobar la máxima proporción de acetato causantes de errores. Otras mezclas del mismo tipo y constituidas por: formiato de octilo y acetato de etilo; formiato de octilo y acetato de metilo; formiato de etilo con propionato y ftalato de etilo, dan resultados similares a los detallados en el cuadro No. I.

Los acetatos, en particular los de metilo y etilo, provocan los errores más serios. Los propionatos, butiratos, homólogos superiores y heterólogos, aun en concentraciones diez mil veces superiores a los formiatos, ejercen una influencia prácticamente despreciable. En el caso de sospecharse la presencia de acetatos, es conveniente disponer de un testigo de acetato puro y efectuar ensayos comparativos.

Cuadro No. I. Ensayo de mezclas de formiato y acetato de metilo

Tubos	Cantidad total de formiato de metilo en μg	Cantidad total de acetato de metilo en μg	Relación: Formiato / Acetato	Resultados
1	100	10000	1/100	violado muy intenso
2	10	10000	1/1000	violado intenso
3	1	10000	1/10000	igual al testigo
4	—	10000	testigo acetato	igual al testigo
5	1	—	testigo formiato	igual al testigo
6	10	—	testigo formiato	igual al testigo

A las cantidades de ésteres especificadas para cada tubo, disueltos en 0,5 ml de etanol, se agregaron 1 ml de B y 0,5 ml de C. Se mantuvieron los tubos por media hora en agua con hielo y añadieron luego 3 ml de E. Volumen final 5 ml. Todos los tubos desarrollaron color, tomándose como testigo la muy débil coloración del tubo No. 4.

Otros tipos de ésteres

La hidroxilaminolisis en medio hidro-alcohólico amoniacal se ensayó con uretanos, cloroformiatos, sulfonatos y ésteres de ácidos inorgánicos (cloruros, sulfatos y carbonatos) con resultado negativo; hecho por otra parte previsible, por cuanto los mismos tampoco originan derivados hidroxámicos en las condiciones más enérgicas establecidas para ellos, por *Buckles* y *Telen*[2].

Acidos carboxílicos

Los ácidos carboxílicos de la serie grasa, incluido el fórmico, dan resultado negativo; lo mismo que los dicarboxílicos (oxálico, malónico y succínico).

Amidas y nitrilos

Las amidas[1,10,14] y nitrilos[14], que en medio alcalino de alcoholato o hidróxido de sodio o potasio originan derivados hidroxámicos, no los producen con la técnica en medio hidro-alcohólico amoniacal establecida. Los compuestos ensayados fueron los siguientes:

Acetamida
Nicotinamida — Acetonitrilo
Dietilamida Nicotínica — Fenilacetonitrilo
Sulfanilamida

Anhidridos y cloruros de ácidos carboxílicos y cloruros de ácidos sulfónicos

Estos compuestos reaccionan directamente con la hidroxilamina, sin necesidad de alcalinizante para producir el correspondiente derivado hidroxámico. En este caso debe neutralizarse previamente la muestra, con lo que se logra la formación de los correspondientes ácidos, los que

darán resultado negativo. Con ésta variante, el resultado es negativo para los siguientes compuestos:

Anhidrido Acético	Cloruro de Acetilo
Anhidrido Propiónico	Cloruro de Benzoílo
Anhidrido Butírico	Cloruro de Ftalilo
Anhidrido Canfórico	Cloruro de Bencene-Sulfonilo
Anhidrido Succínico	P-Acetilamino Bencene-Sulfonilo
Anhidrido Ftálico	

Imidas

Las imidas son causa de error con la técnica propuesta; su estudio será motivo de otra comunicación.

Discusión

La hidroxilaminolisis de los ésteres carboxílicos transcurre muy lentamente en medio alcohólico y a temperatura ambiente. Se la acelera por lo general, mediante el agregado de un equivalente de alcoholato de sodio o con reactivos alcalinizantes tales como los hidróxidos y carbonatos de sodio y potasio[15]. Para los ésteres de mayor peso molecular, debe recurrirse al aumento de temperatura, lo que exige a veces el empleo de solventes de mayor punto de ebullición que el etanol.

La hidroxilaminolisis de los ésteres en medio amoniacal, no detallada en la literatura, al influir selectivamento sobre la velocidad de reacción, permite diferenciar los ésteres fórmicos de los otros ésteres.

Esta reacción se cumple para los ésteres fórmicos en 10 a 15 minutos; en tanto que para los demás ésteres requiere aproximadamente media hora y concentraciones mínimas diez veces mayores a las de aquellos. Ello es válido principalmente para los acetatos, que en la concentración del 1%, después de 20 a 30 minutos, comienzan a originar ácido acetohidroxámico en cantidades detectables. Este es el motivo por el cual, el tiempo de hidroxilaminolisis debe mantenerse dentro del lapso establecido. Se ha elegido la temperatura ambiente de 18 a 20° C, como temperatura operativa de la técnica, al no observarse ventajas ni diferencias apreciables con la del agua helada. En cuanto al empleo de temperaturas superiores, será motivo de otra comunicación.

La reacción de hidroxilaminolisis en medio hidro-alcohólico o alcohólico, se cumple además con otros grupos funcionales; entre otras las amidas[1,10,14], los nitrilos[14], los anhidridos de ácidos carboxílicos[3], los cloruros de ácidos carboxílicos y sulfónicos[2], las lactonas[2], los isocianatos y las cetenas. Evidentemente la presencia de éstos compuestos, son posibles causas de error en la reacción. Sin embargo, en las condiciones fijadas, que permiten distinguir, los ésteres fórmicos de los demás ésteres

carboxílicos, también se logra eliminar la mayoría de los otros compuestos que desarrollan color. Así, la presencia de amidas y nitrilos, no es causa de error; y la interferencia de los anhidridos y cloruros de ácidos carboxílicos y sulfónicos, resulta fácilmente evitable, hidrolisándolos previamente con un álcali. En cuanto a las cetenas, isocianatos y lactonas, presumiblemente no reaccionan con la hidroxilamina en las condiciones operativas establecidas, pero por no disponer de éstos compuestos, no fué posible verificarlo. Los únicos compuestos que causan errores insalvables por el momento, son las imidas.

Conclusiones

Se ha establecido una técnica para el reconocimiento diferencial de pequeñas cantidades de ésteres fórmicos, basada en su hidroxilaminolisis en medio hidro-alcohólico amoniacal y a temperatura ambiente.

Este reconocimiento no resulta afectado por la presencia de otros ésteres carboxílicos en cantidades de mil a diez mil veces mayores, ni por la mayor parte de los compuestos con grupos funcionales reaccionantes con la hidroxilamina. El límite de sensibilidad de la reacción para el radical formilo proveniente de un éster, es de 5 μg, con un límite de dilución de una parte por millón.

Expresamos nuestro agradecimiento al Dr. *Carlos Torres*, de Cadya, S. A., por los ésteres facilitados para la realización del trabajo.

Resumen

Se propone una técnica para el reconocimiento específico de microcantidades de ésteres fórmicos, basada en su transformación en ácido formohidroxámico mediante hidroxilaminolisis en medio hidro-alcohólico amoniacal. En las condiciones elegidas no son causa de error los otros ésteres carboxílicos, ni la mayor parte de las sustancias cuyos grupos funcionales reaccionan con la hidroxilamina en medio alcalino de hidróxido o carbonato de sodio o potasio. El método permite reconocer el radical formilo procedente de ésteres fórmicos en diluciones de una parte por millón, con una sensibilidad de 5 μg. Los ésteres fórmicos no resultan interferidos por cantidades mil a diez mil veces superiores de otros ésteres carboxílicos.

Zusammenfassung

Eine Arbeitstechnik für den spezifischen Nachweis von Mikromengen von Ameisensäureestern wird vorgeschlagen. Sie beruht auf der Umwandlung in Formhydroxamsäure mittels Hydroxylaminolyse in wäßrig-alkoholischem, ammoniakalischem Medium. Unter den gewählten Bedingungen stören weder die übrigen Carbonsäureester noch die meisten derjenigen Substanzen, deren funktionelle Gruppen mit dem Hydroxylamin in alkalischem Medium, das heißt in Gegenwart der Hydroxyde oder Carbonate des Natriums oder

Kaliums, reagieren. Die Methode erlaubt den Nachweis des Formylradikals, das aus Ameisensäureestern entsteht, in Verdünnungen von 1 : 1000000, wobei die Erfassungsgrenze 5 μg beträgt. Es stellte sich heraus, daß der Nachweis der Ameisensäureester durch 1000- bis 10000mal größere Mengen der übrigen Carbonsäureester nicht gestört wird.

Summary

A working technique is suggested for the specific detection of micro quantities of esters of formic acid. It is based on the conversion into formhydroxamic acid esters by means of hydroxylaminolysis in aqueous-alcoholic, ammoniacal medium. Under the chosen conditions, no interference is offered by the other carboxylic acids or by most of the compounds, whose functional groups react, in alkaline medium, with hydroxylamine, i. e., in the presence of the hydroxides or carbonates of sodium or potassium. The method permits the detection of the formyl radical, obtained from formic acid esters, in dilutions of 1 : 1000000, with the corresponding limit of identification of 5 μg. It was found that the identification of formic acid ester was not disturbed by 1000 to 10000 times the quantity of the other carboxylic acid esters.

Résumé

Les auteurs recommandent une technique de travail pour l'identification spécifique de microquantités d'esters formiques. Elle repose sur leur transformation en acide formhydroxamique par hydroxylaminolyse en milieu hydroalcoholique ammoniacal. Dans les conditions choisies, aucune perturbation n'est apportée par la présence des autres esters carboniques ni par celle de la plupart des substances dont les groupes fonctionnels réagissent sur l'hydroxylamine en milieu alcalin, c'est-à-dire en présence d'hydroxyde ou de carbonate de sodium ou de potassium. La méthode permet l'identification du radical formyle qui se forme à partir des esters formiques à des dilutions de 1 : 1000000 avec une limite de sensibilité de 5 μg. Il apparaît que cette identification des esters formiques n'est pas perturbée par la présence de quantités 1000 à 10000 fois plus grandes des autres esters carboniques.

Literatura

[1] *F. Bergman*, Analyt. Chemistry **24**, 1367 (1952).
[2] *R. E. Buckles* y *C. J. Telen*, Analyt. Chemistry **22**, 676 (1950).
[3] *W. M. Diggle* y *J. C. Gage*, Analyst **78**, 473 (1953).
[4] *F. Feigl*, Spot Tests. Vol. II. 4 Ed. Amsterdam: Elsevier Publ. Co. 1950.
[5] *U. T. Hill*, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **18**, 317 (1946).
[6] *U. T. Hill*, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **19**, 932 (1947).
[7] *R. F. Goddu*, *N. F. LeBlanc* y *C. M. Wright*, Analyt. Chemistry **27**, 1251 (1955).
[8] *O. A. Guagnini* y *E. E. Vonesch*, Anal. Asoc. Quim. Arg. **43**, 101 (1955).
[9] *J. Inoue* y *M. Noda*, J. Agr. Chem. Soc. Japan **23**, 368 (1950).
[10] *J. G. Polya* y *P. L. Tardew*, Analyt. Chemistry **23**, 1036 (1951).
[11] *W. H. Rauscher* y *D. L. Mc Peck*, Analyt. Chemistry **22**, 923 (1950).
[12] *W. B. Renfrow* y *A. Chancy*, J. Amer. Chem. Soc. **68**, 150 (1946).
[13] *P. P. T. Sah*, Chem. Zbl. **1941 I**, 35.
[14] *S. Soloway* y *A. Lipschitz*, Analyt. Chemistry **24**, 898 (1952).
[15] *H. L. Yale*, Chem. Review **33**, 208 (1943): "The Hidroxamic Acids".

Aus dem Institut für biochemische Technologie und Lebensmittelchemie der Technischen Hochschule Graz

Beiträge zur mikrochemischen Weinanalyse

Bestimmung von spezifischem Gewicht, Alkohol und Extrakt

Von

G. Gorbach und **H. Pfrimer**

(Eingelangt am 7. Juni 1956)

Verschiedene Mikro- und Halbmikroverfahren werden schon seit längerer Zeit in der Weinanalyse mit Erfolg angewendet, z. B. bei der Bestimmung von flüchtiger Säure, Glycerin, Aschebestandteilen usw. Bei Mangel an Probenmaterial, von dem man bei der Makroanalyse zur Bestimmung nur der wichtigsten Bestandteile des Weines 1,5 l benötigt, sind Mikroverfahren unbedingt erforderlich.

Es gelang uns nun, für die Bestimmung des spezifischen Gewichtes, des Alkohols, des Extraktes und der Weinsäure im Wein Methoden auszuarbeiten, die die üblicherweise geforderte Genauigkeit erreichen und zum Teil sogar übertreffen. Diese soll sich auf die amtlich vorgeschriebenen Dezimalstellen beschränken, damit man einheitliche und allgemein vergleichbare Analysenergebnisse erhält.

1. Bestimmung des spezifischen Gewichtes

Bei der praktischen Weinanalyse wird auf das spezifische Gewicht meist viel zu wenig Wert gelegt, obwohl es ein Charakteristikum des Weines darstellt. So kann mit Hilfe des spezifischen Gewichtes z. B. festgestellt werden, ob Probe und Lieferung ein und dasselbe Produkt darstellen.

Von den bekannten Makromethoden kommen zur praktischen Bestimmung des spezifischen Gewichtes mit kleinen Substanzmengen wohl nur Wägeverfahren und Auftriebsverfahren in Betracht. Den Vergleichswert ermittelten wir mit dem amtlichen Verfahren, das die Pyknometermethode mit etwa 50 ml vorschreibt, wobei die Werte mit vier Dezimalstellen angegeben werden müssen.

a) Bestimmung des spezifischen Gewichtes mit Wägepipetten:

Wir führten die Versuche mit den Präzisionspyknometern nach *Furter*[1] und mit Wägepipetten nach *Pregl*[2] durch. Letztere haben den Vorteil, leichter und mit einer engeren und kürzeren Kapillare versehen zu sein, so daß Fehler durch deren unterschiedliche Benetzung vernachlässigt werden können. Außerdem braucht die Wägepipette nicht vor jeder Bestimmung getrocknet zu werden, weil man das weite Rohrstück oberhalb der Kapillare mit einem Filterpapierstreifen austrocknen kann; das ist für Reihenuntersuchungen wichtig.

Wir konnten mit Hilfe dieser Wägepipetten mit Mengen von 2 bis 5 ml Wein die geforderte Genauigkeit der Werte erreichen. Die Bestimmung dauert nur 15 Minuten gegenüber mindestens 1 Stunde bei der Makropyknometermethode. Die mit Wein gefüllten Wägepipetten nehmen nämlich bereits in 10 Minuten Raumtemperatur an, so daß das zeitraubende Temperieren im Wasserbad oder Thermostaten wegfällt. Man wägt immer bei Raumtemperatur und rechnet nötigenfalls nach den Tabellen von *Landolt-Börnstein* auf 4° bzw. 20° um. Dazu dient die Formel $s = \frac{w_1}{w_2} \cdot s$ (scheinbar), wobei w_1 die Dichte des luftfreien Wassers bei der Versuchstemperatur und w_2 die Dichte des luftfreien Wassers bei der Bezugstemperatur bedeuten.

Zur Durchführung der Bestimmung läßt man die saubere, trockene Wägepipette zuerst 10 Minuten neben dem Waagekasten liegen und wägt sie dann. Der Wasserwert wird mit frisch dest. Wasser ermittelt, indem man mit Hilfe eines Gummischlauches mit dem Mund Flüssigkeit einsaugt und durch Abtupfen mit Filterpapier auf die Marke einstellt. Der obere, weite Teil der Pipette wird mit einem Filterpapierstreifen getrocknet. Nach 10 Minuten wägt man und berücksichtigt dabei eine allfällige Verschiebung des Meniskus von der Nullmarke und die Wägetemperatur. Der Wasserwert wird mehrmals bestimmt.

Die Wägepipette braucht vor der Füllung nicht trocken zu sein, muß aber dann dreimal mit je $^1/_4$ ihres Volumens mit dem zu untersuchenden Wein ausgewaschen werden. Die Bestimmung wird genau so wie beim Wasserwert ausgeführt. Die Berechnung erfolgt wie üblich.

b) Bestimmung des spezifischen Gewichtes nach *Zukriegel*:

Weiters stellten wir Versuche mit dem Apparat nach *H. Zukriegel*[3] an. Es handelt sich hierbei um ein hydrostatisches Verfahren, das jedoch in der ursprünglichen Anordnung für Reihenuntersuchungen äußerst umständlich und daher kaum brauchbar ist, da erstens jede Probe extra gewogen werden, zweitens der Senkkörper vor jeder Bestimmung vollständig trocken sein muß und drittens eine Gewichtsänderung bei Flüssigkeiten mit hohem Dampfdruck während der Wägung eintreten kann. Die im Hinblick auf den letztgenannten Fall von *Zukriegel* vorgeschlagene

Änderung der Versuchsanordnung erscheint uns überhaupt für diese Art der Bestimmung als zweckmäßig; sie besteht darin, daß das Gerät auf die Waagschale gestellt wird und der Senkkörper in ein Gefäß mit Flüssigkeit getaucht wird, das neben der Waagschale steht. Die Vorteile bestehen darin, daß einerseits das Gewicht des Apparates und des Senkkörpers nur einmal bestimmt werden muß — man erspart somit die halbe Anzahl Wägungen —, anderseits kann der Tauchkörper zwischen den Reihenbestimmungen von Flüssigkeit behaftet sein; er muß nur bei Änderung der Probe (nicht aber bei Parallelbestimmungen) durch kurzes Eintauchen in einen kleinen Teil neuer Probe gewaschen werden. Diese Waschflüssigkeit ist zu verwerfen. Nach dieser Anordnung führten wir unsere Bestimmungen durch. Das Volumen des Senkkörpers wurde durch Ermittlung des Wasserwertes überprüft. Man arbeitet auch hier bei Raumtemperatur und kann die Ergebnisse nach der erwähnten Formel auf die gewünschte Bezugstemperatur umrechnen. Die Empfindlichkeit dieser Methode kann nach unserer Erfahrung gesteigert werden, wenn der Senkkörper direkt an die immer vorhandenen Haken über der Waagschale gehängt und das Gefäß mit der zu untersuchenden Flüssigkeit mittels einer Klammer über der Schale gehalten wird. Der Vorteil dieser Methode ist, daß außer den normalen analytischen Waagen alle Mikrowaagen und Torsionswaagen mit einer für den Senkkörper hinlänglichen Belastbarkeit verwendet werden können, wodurch man noch größere Genauigkeit erzielt.

Um die bei hydrostatischen Waagen auftretenden Fehler möglichst zu verringern, probierten wir neben verschiedenen Aufhängedrähten, Haaren, Seiden und Platindrähten einen 0,08 mm starken Chromnickeldraht aus, der die wenigsten Abweichungen zeigte. Auch versuchten wir das Benetzungsmittel „Nekal", das aber keine wesentlichen Vorteile brachte. Die an den Berührungsstellen auftretenden Fehler könnten auch hier durch ein Differentialverfahren weitgehend beseitigt werden, indem man an beiden Waagebalken einen möglichst ähnlichen Senkkörper befestigt, der z. B. auf der einen Seite in Wasser, auf der anderen Seite in Wein taucht.

Ergebnisse

Zur Bestimmung verwendete Weine:

1. Pößnitzberger;
2. Riesling;
3. Luttenberger;
4. Sylvaner;
5. Tiroler, rot;
6. Dalmatiner;
7. Mistella;
8. Malaga.

Tabelle 1. Spezifische Gewichte der Weine 1 bis 8

I: Makrobestimmung nach der Pyknometermethode als Vergleichswert
II: Mikrobestimmung mit der Wägepipette I (1 ml Inhalt)
III: Mikrobestimmung mit der Wägepipette II (0,5 ml Inhalt)
IV: nach *Zukriegel* (Senkkörper 1 ml), Probemenge zirka 5 ml
V: nach *Zukriegel* (Senkkörper 0,5 ml), Probemenge zirka 2 ml

	I	II	Δ ‰	III	Δ ‰	IV	Δ ‰	V	Δ ‰
1.	0,9941/0	0,9941/7	+0,07	0,9941/6	+0,06	0,9941/4	+0,04	0,9941/9	+0,09
2.	0,9955/3	0,9955/9	+0,06	0,9956/1	+0,08	0,9956/6	+0,13	0,9956/6	+0,13
3.	0,9963/4	0,9964/0	+0,06	0,9964/5	+0,11	0,9964/2	+0,08	0,9964/3	+0,09
4.	0,9966/0	0,9967/4	+0,14	0,9967/3	+0,13	0,9968/0	+0,20	0,9968/0	+0,20
5.	0,9960/1	0,9961/6	+0,15	0,9963/3	+0,32	0,9959/7	—0,04	0,9959/5	—0,06
6.	0,9943/3	0,9943/6	+0,03	0,9943/8	+0,05	0,9943/5	+0,02	0,9944/0	+0,07
7.	1,0421/9	1,0422/6	+0,07	1,0423/0	+0,11	1,0422/8	+0,09	1,0423/0	+0,11
8.	1,0687/5	0,0687/5	±0,00	1,0688/0	+0,05	1,0688/4	+0,09	1,0688/6	+0,11
		Mittel	+0,07		+0,11		+0,08		+0,09

Die Bestimmung wurde jeweils bei 20° durchgeführt und auf Wasser von 20° bezogen. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte von 6 Bestimmungen.

2. Bestimmung des Alkohols in Wein

Der Alkohol in Wein läßt sich mit physikalischen und chemischen Methoden bestimmen; jene sind weiter verbreitet. Für den Praktiker ist oft die Kenntnis des Alkoholgehaltes allein von größter Bedeutung; dies hat zur Ausarbeitung zahlreicher Verfahren geführt, bei denen oft von vornherein auf eine besondere Genauigkeit verzichtet wird.

Den Vergleichswert ermittelten wir wieder nach dem amtlichen Verfahren. Der zur Bestimmung des spezifischen Gewichtes im Pyknometer befindliche Wein wird in einen Destillierkolben übergeführt, dreimal mit zusammen 25 ml Wasser nachgespült und langsam zwei Drittel der Flüssigkeit destilliert. Das Destillat wird im gleichen Pyknometer aufgefangen, unter gutem Durchmischen mit Wasser aufgefüllt und das spezifische Gewicht wie üblich bestimmt. Der Alkoholgehalt ist aus den Tabellen von *Windisch*[4] bzw. von *Großfeld*[5] zu entnehmen. Da flüchtige Säure das Gewicht einer Alkohol-Wassermischung erhöht, ist eine entsprechende Korrektur nötig, jedoch erst ab 1,2 g flüchtiger Säure, berechnet als Essigsäure. Dazu bestimmt man im Destillat nach dem spezifischen Gewicht den Säuregehalt durch Titration und setzt diesen in Rechnung.

Dieses physikalische Verfahren erscheint uns nach Überwindung der apparativen Schwierigkeiten auch für die Mikrobestimmung am besten geeignet. Es gelang uns, die Destillation mit Substanzmengen von 1,0 und 0,5 ml quantitativ auszuführen und den Alkoholgehalt aus dem spezifischen Gewicht des Destillates zu ermitteln. Die hierfür notwendige

Apparatur stand — abgesehen von einigen geringfügigen Änderungen — in der Mikro-Destillationseinrichtung nach *Gorbach*[6] zur Verfügung. Wir führten die Bestimmung folgendermaßen aus: Die zur Ermittlung des spezifischen Gewichtes verwendete Wägepipette wird durch Ausblasen in den als Destillationskölbchen dienenden Spitzbecher entleert und dreimal mit zusammen zwei Drittel des Pipettenvolumens an Wasser nachgespült. Die im Kühlmantel aus Drahtgeflecht befindliche Watte tränkt man mit Alkohol-Äther, schiebt den Spitzbecher auf, verbindet mit den Haltefedern und läßt dann einen schwachen Luftstrom durchstreichen. Als Vorlage dient ein Spitzbecher mit spitz ausgezogenem Boden, in den die mit Gummischlauch und Quetschhahn versehene Wägepipette, die zum Abmessen des Weines verwendet wurde, hineinragt. Ihre Spitze berührt den Boden. Sobald sich nach dem Erhitzen mit der Mikroflamme Destillat in der Vorlage gesammelt hat, saugt man dieses immer wieder in die Wägepipette, bis diese voll ist. Durch Entfernen der Flamme beendet man die Destillation und legt die Wägepipette neben die Waage. Nach 10 Minuten hat einerseits die Pipette samt Flüssigkeit Raumtemperatur angenommen, anderseits hat die durch das Mischen von Alkohol und Wasser bedingte Kontraktion stattgefunden. Nun wird auf die Marke eingestellt und weiter wie bei der Bestimmung des spezifischen Gewichtes verfahren. Die Fehler, die beim Einstellen auf die Nullmarke, durch Absaugen mit Filterpapier und dadurch entstehen, daß nur im erweiterten Teil der Pipette eine vollkommene Vermischung von Alkohol und Wasser stattfindet, sind geringfügig und können bei der verlangten Genauigkeit vernachlässigt werden. Praktisch ist der ganze Alkohol übergetrieben, sobald die Hälfte der Flüssigkeit abdestilliert ist und das nachkommende Destillat den Apparat durchspült. Besonderes Augenmerk ist auf ausreichende Kühlung zu legen.

Tabelle 2

I: Makrobestimmung als Vergleichswert
II: Mikrobestimmung mit der Wägepipette I (1 ml Inhalt)
III: Mikrobestimmung mit der Wägepipette II (0,5 ml Inhalt)
Δ: Absolute Abweichung von den Makrowerten

	I	II	Δ	III	Δ
1.	96,5 ± 0,2	96,3 ± 0,5	—0,2	96,1 ± 0,6	—0,4
2.	88,8 ± 0,2	89,5 ± 0,7	+0,7	88,2 ± 0,7	—0,6
3.	92,6 ± 0,4	92,5 ± 0,6	—0,1	92,0 ± 0,8	—0,6
4.	80,4 ± 0,3	79,9 ± 0,5	—0,5	80,0 ± 0,7	—0,4
5.	79,6 ± 0,3	81,1 ± 0,2	+0,5	79,1 ± 0,4	—0,5
6.	109,8 ± 0,3	109,3 ± 0,7	—0,5	109,3 ± 0,7	—0,5
7.	124,2 ± 0,4	122,8 ± 0,8	—1,4	122,5 ± 1,0	—1,7
8.	125,9 ± 0,2	125,6 ± 0,7	—0,3	125,0 ± 0,7	—0,9

Wir bestimmten den Alkoholgehalt der vorhin angegebenen acht Weine aus den spezifischen Gewichten der Destillate bei 20° bezogen auf Wasser von 20°, bzw. durch Umrechnen nach der bei der Bestimmung des spezifischen Gewichtes angegebenen Formel und Berechnung nach einer Alkoholtabelle. Tabelle 2 gibt den Alkoholgehalt der acht Weine in g/l an; zum besseren Vergleich der Werte aus den Makro- und Mikrobestimmungen sind unter Δ die absoluten Abweichungen von den Makrowerten angegeben.

3. Bestimmung des Extraktgehaltes

Ursprünglich wurde an den Untersuchungsanstalten der Extrakt auf direktem Wege bestimmt, und zwar durch Eindampfen einer bestimmten Weinmenge und Trocknen des Rückstandes. Heute wird der Extrakt meist auf indirektem Wege aus dem spezifischen Gewicht bestimmt und nach Tabellen, denen die Saccharosetabelle nach *Plato*[7] als Grundlage dient, berechnet. Die Fehler des indirekten Verfahrens beruhen darauf, daß einerseits die Essigsäure und ihre Homologen bei der Alkoholdestillation nicht vollkommen flüchtig sind und anderseits die Extrakttabellen aus dem Durchschnitt der spezifischen Gewichte der im Extrakt enthaltenen Stoffe berechnet bzw. den Rohrzuckergehalten gleichgesetzt werden; dies wäre nur für Äpfelsäure und Invertzucker annähernd richtig, wogegen die spezifischen Gewichte von Glycerin, Milchsäure, Weinsäure, Alkalisalzen usw. zum Teil erheblich abweichen. Diese Fehler gleichen sich jedoch weitgehend aus, z. B. erhöht 1 g Glycerin den Extraktgehalt nur um rund 0,6 g/l[4]. Die direkte Methode empfiehlt sich auch heute noch, da man z. B. aus der Beschaffenheit des Extraktes wertvolle Schlüsse auf den Glycerinzusatz ziehen kann. Nach *Möslinger*[8] werden dazu 50 ml Wein in einer Platinschale auf dem Wasserbad bis zur dickflüssigen Beschaffenheit eingedampft und $2^1/_2$ Stunden in einem besonderen Trockenschrank bei 100° getrocknet. Durch dieses hohe und andauernde Erhitzen treten aber die verschiedensten chemischen Veränderungen ein und einzelne Säuren verflüchtigen sich, wodurch auch hier Fehler auftreten können.

Bei unserer Arbeit zogen wir zum Vergleich wieder das amtliche Verfahren heran. Der Extraktgehalt wird meist im Anschluß an das spezifische Gewicht und den Alkoholgehalt bestimmt, indem man den Destillationsrückstand quantitativ wieder in das vorher benützte Pyknometer bringt, auffüllt und ebenfalls das spezifische Gewicht bestimmt.

Die Berechnung erfolgt nach den Tabellen von *Windisch*[4]. Bei Weinen mit mehr als 1,2 g flüchtiger Säure ist die in der amtlichen Anweisung angegebene Korrektur notwendig.

Für die praktische Durchführung im Mikroverfahren nimmt man nach der Alkoholdestillation den Destillationsspitzbecher ab und kühlt mit

Tabelle 3

I: Makrobestimmung als Vergleichswert
II: Wert nach der Tabariéschen Formel errechnet
III: Mikrobestimmung mit der Wägepipette I (1 ml Inhalt)
IV: Wert nach der Tabariéschen Formel errechnet
V: Mikrobestimmung mit der Wägepipette II (0,5 ml Inhalt)
VI: Wert nach der Tabariéschen Formel errechnet
VII: Direkte Bestimmung nach der Makromethode
VIII: Direkte Bestimmung nach der Mikromethode
Δ: Abweichungen von der Pyknometermethode

	I	II	Δ	III	Δ	IV	Δ	V	Δ	VI	Δ	VII	Δ	VIII	Δ
1.	26,3	26,2	—0,1	26,4	+0,1	26,1	+0,2	25,7	—0,6	26,2	—0,1	25,1	—1,2	26,3	0,0
2.	27,4	27,0	—0,4	27,2	—0,2	27,4	0,0	26,9	—0,5	27,0	—0,4	25,1	—2,3	26,3	—1,1
3.	30,8	30,5	—0,3	30,7	—0,1	30,8	0,0	30,4	—0,4	30,7	—0,1	28,7	—2,1	29,6	—1,2
4.	26,8	26,6	—0,2	26,4	—0,4	26,7	—0,1	26,6	—0,2	26,8	0,0	25,0	—1,8	25,9	—0,9
5.	25,1	24,8	—0,3	25,0	—0,1	25,4	—0,3	25,1	0,0	25,4	+0,3	25,5	—1,6	24,7	—0,4
6.	31,5	31,7	+0,2	31,4	—0,1	31,7	+0,2	31,4	—0,1	31,7	+0,2	29,7	—1,8	30,4	—1,1
7.	161,6	161,6	0,0	161,3	—0,3	161,3	—,03	161,1	—0,5	161,2	—0,4	158,7	—2,9	160,8	—0,8
8.	232,5	231,8	—0,7	231,0	—1,5	231,7	—0,8	230,8	—1,5	231,5	—1,0	231,9	—0,6	231,8	—0,7
	Mittel		—0,3		—0,3		—0,1		—0,8		—0,2		—1,8		—0,8

kaltem Wasser. In der Zwischenzeit hat man das spezifische Gewicht des Destillates bestimmt. Hierauf wird der Rückstand in die Wägepipette gesaugt und durch tropfenweise Wasserzugabe nachgespült bzw. aufgefüllt. Dann wird wie üblich das spezifische Gewicht bestimmt. Die Ermittlung des Extraktes aus dem spezifischen Gewicht des Rückstandes stellt gleichzeitig eine Kontrolle der Bestimmung des spezifischen Gewichtes und des Alkoholgehaltes des Weines dar, da nach der Tabariè-schen Formel $d_w + 1 = d_a + d_c$ (d_w, d_a und d_c bedeuten die Dichten von Wein, Alkoholdestillat und Extrakt) höchstens Abweichungen von 2 bis 3 Einheiten der vierten Dezimale zulässig sind, die durch die erwähnten Fehler verursacht werden. Man kann also in der Praxis auf die Extraktbestimmung verzichten und den Gehalt rechnerisch ermitteln.

Bei der direkten Extraktbestimmung im Mikromaßstab ergaben sich gut vergleichbare Werte bei Verwendung selbst hergestellter Aluminiumschälchen von 15 mm Durchmesser und 4 mm Randhöhe, die zum Anfassen

mit einer Pinzette bzw. zum Befestigen an der Mikroschnellwaage auf einer Seite einen 4 × 4-mm-Ansatz mit Loch besitzen; ihr Leergewicht beträgt 80 bis 90 mg. Die Einwaage erfolgte mit einer Preglschen Wägepipette, deren Ausfluß von genau 0,5 ml durch Wägung bestimmt wurde. Die besten Werte ergaben sich beim Eindampfen im Vakuumexsikkator bei 60° innerhalb von $1^1/_2$ Stunden. In Tabelle 3 ist der Extraktgehalt der acht Weine in g/l angegeben.

Zusammenfassung

Es wurden Mikromethoden für die Bestimmung des spezifischen Gewichtes, des Alkoholgehaltes und des Extraktes von Wein ausgearbeitet. Man benötigt hierzu gegenüber den Makrobestimmungen $^1/_{10}$ bis $^1/_{100}$ an Substanz und $^1/_4$ bis $^1/_6$ an Zeit und erreicht auch hier die amtlich vorgeschriebene Genauigkeit.

Das spezifische Gewicht, der Alkoholgehalt und der Extrakt werden aufeinanderfolgend unter Verwendung der Preglschen Wägepipette und der Mikrodestillationseinrichtung nach *Gorbach* bestimmt. Hat man nur das spezifische Gewicht des Weines zu bestimmen, so bedient man sich zweckmäßig der hydrostatischen Methode nach *Zukriegel* in der von uns abgewandelten Form. Sie ist mit 2 bis 5 ml Wein mit jeder analytischen Waage ausführbar. Zur direkten Extraktbestimmung dampft man den Wein in selbst hergestellten Aluminiumschälchen im Vakuum ein. Diese Methode geht sehr rasch, erfordert wenig Wein und ist der Makrobestimmung an Genauigkeit überlegen.

Summary

Methods were developed for the determination of the specific gravity, the alcohol content, and of the extract of wine. In contrast to the macro methods, there is required $^1/_{10}$ to $^1/_{100}$th of the sample and $^1/_4$ to $^1/_6$th of the time, and yet the accuracy demanded by the regulations is attained.

The specific gravity, the alcohol content, and the extract were determined in succession with the aid of the *Pregl* weighing pipette and the microdistillation apparatus according to *Gorbach*. If only the specific gravity of the wine is to be determined, it is best to use the hydrostatic method of *Zukriegel* in the form modified by the authors. It may be accomplished with 2 to 5 ml of wine on any analytical balance. To determine the extract directly, the sample is evaporated in vacuo in a home-made aluminium dish. The method is fast, requires little wine, and is superior to the macro method in accuracy.

Résumé

Mise au point de microméthodes de détermination du poids spécifique, de la teneur en alcool et de l'extrait des vins. Comparativement aux déterminations effectuées à l'échelle macroanalytique il n'est besoin que du $^1/_{10}$ au $^1/_{100}$ de la quantité de substance et du $^1/_4$ au $^1/_6$ du temps; simultanément on atteint la précision imposée par les prescriptions officielles.

Le poids spécifique, la teneur en alcool et l'extrait sont déterminés successivement par l'emploi de la pipette gravimétrique de *Pregl* et du dispositif de microdistillation de *Gorbach*. Si l'on doit uniquement déterminer le poids spécifique du vin, il est alors commode d'employer la méthode hydrostatique de *Zukriegel* sous la forme modifiée par les auteurs; il suffit alors de 2 à 5 ml de vin et d'une balance analytique pour la mettre en œuvre. La détermination directe de l'extrait est effectuée par évaporation du vin sous vide dans des petites capsules d'aluminium que l'on prépare soi-même. Cette méthode est très rapide, nécessite peu de vin et surpasse en précision la détermination macroanalytique.

Literatur

[1] *M. Furter*, Helv. Chim. Acta **21**, 1666 (1938).

[2] *F. Pregl*, Die quantitative organische Mikroanalyse, 3. Aufl. Berlin: J. Springer. 1930.

[3] *H. Zukriegel*, Natur und Technik **1**, 22 (1950).

[4] *K. Windisch*, in: *A. Beythien*, Laboratoriumsbuch für den Lebensmittelchemiker, 2. Aufl., Dresden: Steinkopff, 1939. S. 573, und in anderen einschlägigen Büchern.

[5] *J. Großfeld*, in: *A. Beythien*, l. c. S. 580 und 581; Handbuch d. Lebensmittelchemie, VII. Berlin: J. Springer. 1938. S. 291/292.

[6] *G. Gorbach*, Mikrochemisches Praktikum. Heidelberg: Springer-Verlag. Im Druck.

[7] *Plato*, Saccharosetafel, in: *Landolt-Börnstein*, Physikalisch-chemische Tabellen. 5. Aufl., I. Bd. Berlin: J. Springer. 1923. S. 463.

[8] *Möslinger*, Handbuch der Lebensmittelchemie, VII. Berlin: J. Springer. 1938. S. 294.

Aus dem Institut für organische Chemie der Universität Ljubljana, Jugoslawien, und aus dem Laboratorium Dr. A. Kofler, Innsbruck

Beitrag zur mikroskopischen Untersuchung und Identifizierung der Mutterkornalkaloide. II

Von

J. Kolšek

(Eingelangt am 14. Juni 1956)

Neun von den zwölf wichtigsten, bis heute bekannten Mutterkornalkaloiden wurden neben ihren Grundbaustoffen, der d-Lyserg- und iso-Lysergsäure, schon in einer vorausgegangenen Arbeit[1] behandelt. Um diese Stoffklasse vollkommen zu erfassen, wurden noch die drei fehlenden Alkaloide, die uns damals nicht zur Verfügung standen, einer Untersuchung nach den Koflerschen Thermomikromethoden[2] unterworfen. Außer den sonst üblicherweise für die Identifizierungstabelle verwendeten Konstanten wurden auch in diesem Fall Kristallfällungen herangezogen. Dabei wird in der Weise vorgegangen, daß man auf den glasigen Rückstand aus einem Lösungsmittel, in dem die Substanz gut löslich ist, ein anderes mit geringerer Lösungsfähigkeit zusetzt. Zur Herstellung des glasigen Rückstandes wurde bei den weiter unten beschriebenen Alkaloiden Chloroform verwendet; das Abdunsten wurde, um das Kriechen zu verhindern, auf einer vorgewärmten Lochplatte vorgenommen. Die ermittelten physikalischen Konstanten sind nach Art der Koflerschen Identifizierungstabelle zusammengestellt*.

Ergosinin, das rechtsdrehende Isomere des Ergosins, wurde schon im Jahre 1936 zum ersten Male durch *Smith* und *Timmis*[3] beschrieben und zusammen mit Ergosin durch *A. Kofler*[4] mikroskopisch untersucht. Die Originalsubstanz lag in Form stäbchen- und prismenartiger Kristalle vor, die in Chloroform und Aceton gut löslich sind. Auf dem Mikroheiztisch bleiben die Kristalle bis zum Schmelzen, das zwischen 217 und

* Für die Überlassung der Alkaloidproben danken wir Herrn Prof. Dr. *A. Stoll* auf das herzlichste.

Tabelle

Fp.	Substanz*	Eutekt. Temperaturen		Besondere Kennzeichen
		Salophen	Dicyandiamid	
217—222	Ergosinin $C_{30}H_{37}O_5N_5$	177—178	—193—	Schmz. braun, einz. Bls. In Paraf. träges Zerfließen zw. 211 und 214° u. Bräunung. Lsg.-Rückst. aus Chlorof.: + Äther sofort flache Prismen, dachförmig oder gekerbt begrenzt; + Alk. gerade oder schräg begrenzte Prismen u. Stengel. A. E. quer, A. W. mittel, pos., $\varrho < v$; + Meth. Stengel bis derbe Prismen.
229—231	Ergocorninin $C_{31}H_{39}O_5N_5$	181—182	—198—	Schmz. braun, Bls.-Blg. In Paraf. Zerfließen zw. 214 und 219°, Bräunung. Lsg.-Rückst. aus Chlorof.: + Äther momentan Spindeln u. flächenart. Kr.; + Meth. Sechsecke mit 2 Prismenfl. u. Austritt zweiter Mittellinie. A. E. quer, A. W. klein, pos., starke Disp., $\varrho < v$; + Alk. gestreckte Sechsecke, Stäbchen bis Stengel.
236—237	Ergokryptinin $C_{32}H_{41}O_5N_5$	—178—	199—201	Schmz. dunkelbraun, isolierte Kr. verkohlen ohne Zerfließen. In Paraf. braune Tropfen zw. 225 und 228°. Lsg.-Rückst. aus Chlorof.: + Äther Spindeln, Rosetten u. Stengel. Spindeln mit opt. Normale, Stengel. A. E. längs, A. W. mittel, pos., $\varrho < v$; + Meth. Nadeln, gefiederte u. treppenart. Kr.; + Alk. Nadeln, zugespitzte Stengel.

* Strukturformeln siehe Kolšek 1.

222° eintritt, unverändert. Das Zerfließen geht unter Zersetzung und Braunfärbung vor sich, aus der dünnflüssigen Schmelze entweichen gasförmige Zersetzungsprodukte. Beim Erhitzen in Paraffinöl, worin Ergosinin etwas löslich ist, tritt Tropfenbildung bei 211 bis 214° ein, die Schmelze verfärbt sich braun. Das seinerzeit von *A. Kofler* untersuchte Präparat wies einen Schmelzpunkt von 210 bis 215° auf.

Das Eutektikum mit Salophen schmilzt bei 177 bis 178°, dasjenige mit Dicyandiamid träg bei 193°. In beiden Fällen wird die Schmelze braun.

Zur näheren Charakterisierung wurden folgende Kristallreaktionen herangezogen. Mit Äther gibt Ergosinin sofort flache Prismen, die an der schmalen Seite entweder dachförmig abgeschlossen sind oder unregelmäßig gekerbte Ränder besitzen. Die Bestimmung der Brechungsindizes ist wegen der Löslichkeit in den üblichen Einbettungsflüssigkeiten undurchführbar. Mit Äthanol werden gerade oder schräg abgeschnittene Prismen oder Stengel erhalten. An Prismen mit düster bläulicher Interferenzfarbe läßt sich der Austritt der ersten Mittellinie bei querliegender Achsenebene feststellen. Der Achsenwinkel ist untermittelgroß, der optische Charakter positiv, die Dispersion klein, $\varrho < v$. Mit Methanol gibt Ergosinin in größeren Konzentrationen Stengel bis derbe Prismen. Läßt man Methanol auf die Kristalle der ursprünglichen Substanz einwirken, so kann man vielfach während des Auflösens das Entstehen neuer langer Nadeln beobachten, die ein Addukt des Alkaloids mit dem Lösungsmittel darstellen[3]. Mit Äthylacetat werden Spindeln und Prismen, zum Teil in strahlenartigen Aggregaten, erhalten. Die Kristalle wachsen langsam, können aber beträchtliche Größe erreichen. Mit Benzol gibt Ergosinin wie auch die beiden folgenden Alkaloide nur körnige Fällungen, die sich für einen Nachweis nicht eignen.

Ergocorninin wurde bisher mikroskopisch noch nicht untersucht. Die Kristalle der ursprünglichen Substanz hatten die Form von Prismen und sechseckigen Blättchen. Sie schmelzen bei 229 bis 231° zu Tropfen, die Schmelze verfärbt sich braun und es tritt augenblicklich Zersetzung ein. Wegen der geringen Löslichkeit in Paraffinöl wird hier das Zerfließen bei 214 bis 219° beobachtet.

Die eutektische Temperatur eines Ergocorninin-Salophengemisches beträgt 181 bis 182°, das Eutektikum mit Dicyandiamid schmilzt sehr träg bei 198°.

Mit Äther setzt die Kristallisation momentan ein, es werden spindelförmige Kristalle und flächenartige Aggregate gebildet. Ebenso gelingt die Kristallbildung mit Methanol sehr prompt, es fallen sehr charakteristische Kristalle in Form nahezu regelmäßig sechseckiger, pflastersteinartiger Blättchen aus. Die Kristalle zeigen meist zwei seitliche Facetten eines Prismas, in deren Richtung sich die Schwingungsrichtung α' feststellen läßt. Auf der Kante stehende Kristalle zeigen eine rhomboide oder

gestreckt sechseckige Begrenzung. Erstere haben düstere Interferenzfarbe, zeigen den Austritt der ersten Mittellinie bei querliegender Achsenebene und positiven optischen Charakter. Besonders charakteristisch ist die große Dispersion $\varrho < v$; der Achsenwinkel ist klein. Aus Äthanol werden neben gestreckt sechseckigen Prismen auch dachförmig begrenzte Stäbchen, Prismen und lange Stengel erhalten. Aus Äthylacetat können Spindeln, teils zu Rosetten gruppiert, erhalten werden. Da die Kristalle in diesem Lösungsmittel beträchtlich löslich sind, geht die Kristallisation während des Verdunstens des Lösungsmittels langsam vor sich hin.

Ergokryptinin, das rechtsdrehende Isomere des Ergokryptins, wurde auf mikroskopischem Wege ebenfalls zum ersten Male untersucht. Die Kristalle der Originalsubstanz zeigten die Form von Nadeln und Stäbchen und sind leicht löslich in Chloroform, weniger leicht in Aceton und Äthylacetat.

Beim Erhitzen auf dem Mikroheiztisch beginnt die Substanz bei 236 bis 237° schwarz zu werden, die Doppelbrechung geht verloren, teilweise tritt Zerfließen zu braunen Tropfen ein. Einzelne, isoliert liegende Kristalle verkohlen nur und behalten ihre Konturen bei. Bei Erwärmen in Paraffinöl schmilzt die Substanz bei 225 bis 228° zu Tropfen, die sich dann braun verfärben.

Mit Salophen vermischt schmilzt Ergokryptinin träg bei 178°, im Gemisch mit Dicyandiamid bei 199 bis 201°.

Der glasige Rückstand einer Chloroformlösung gibt mit Äther sofort spindelförmige, zu Rosetten angeordnete Kristalle und zum Teil lange Stengel. Die Längsrichtung der Spindeln entspricht der Schwingungsrichtung α. An auf der Kante stehenden Kristallen mit düster bräunlicher Interferenzfarbe erkennt man den Austritt der ersten Mittellinie mit optisch positivem Charakter. Die Achsenebene liegt in der Längsrichtung, der Achsenwinkel ist mittelgroß, die Dispersion gering, $\varrho > v$. Besonders kennzeichnend sind die Kristalle aus Methanol, die aus Nadeln, gefiederten und treppenartigen Gebilden bestehen. Mit Äthanol werden Nadeln und zugespitzte Stengel erhalten, die Kristallisation setzt schon in sehr kurzer Zeit ein. Mit Äthylacetat gelingt die Kristallisation aus einer konz. Lösung, es werden Prismen, Stäbchen, in strahlenartigen Aggregaten gruppiert, und auch Nadeln erhalten.

Frau Dr. *A. Kofler* bin ich sowohl für Anleitung und wertvolle Ratschläge während der Arbeit, wie auch für die kritische Überprüfung dieser Abfassung zu herzlichstem Dank verpflichtet.

Zusammenfassung

Die drei Mutterkornalkaloide Ergosinin, Ergocorninin und Ergokryptinin wurden nach den Koflerschen Thermomikromethoden untersucht. Da die Schmelzpunkte und eutektischen Temperaturen nahe

beisammen liegen, wurden zum Nachweis einige Kristallreaktionen herangezogen, die auf Grund ihrer Morphologie und ihrer kristalloptischen Eigenschaften eine sichere Unterscheidung ermöglichen.

Summary

The three ergot alkaloids: ergosinine, ergocorninine, ergocryptinine, were studied by the *Kofler* thermomicro methods. Since the melting points and eutectic temperatures lie close together, several crystal reactions were used for detection purposes. On the basis of their morphology and their crystallooptical properties, these reactions made possible a reliable differentiation.

Résumé

Les trois alcaloïdes de l'ergot de seigle l'ergosinine, l'ergocorninine et ergokryptinine, ont été étudiés suivant les thermomicrométhodes de *Kofler*. Les points de fusion et les températures eutectiques étant très voisins, on a mis en évidence quelques réactions cristallines d'identification qui fondées sur la morphologie et les propriétés optiques des cristaux permettent une différenciation très sûre.

Literatur

[1] *J. Kolšek*, Mikrochim. Acta [Wien] **1956**, 1193.

[2] *L. Kofler* und *A. Kofler*, Thermomikromethoden zur Kennzeichnung organischer Stoffe und Stoffgemische, 3. Aufl. Innsbruck: Wagner. 1954.

[3] *S. Smith* und *G. M. Timmis*, Nature **137**, 111, 1075 (1936); J. Chem. Soc. London **83**, 396 (1937).

[4] *A. Kofler*, Arch. Pharmaz. **276**, 40 (1938).

Laboratoire de Spectrographie, Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer, Bondy, France

Application de la spectrophotométrie de flamme à l'analyse du milieu végétal

Par

Maurice Pinta et **Colette Bove**

Avec 19 figures

(Reçu le 2 juin 1956)

Introduction

Si le principe de l'analyse minérale par spectrophotométrie de flamme est maintenant largement connu[1, 2], l'application pratique se heurte souvent à des obstacles entachant les dosages, d'erreurs parfois importantes; l'analyse d'un élément, effectuée par mesure de l'intensité d'une radiation spectrale, exige, en effet un certain nombre de précautions tenant compte de la complexité du milieu étudié. L'analyse simultanée des cations, Na, K, Ca, Mg, dans un extrait végétal, s'opère dans un milieu complexe comprenant d'autres éléments, ions ou substances: SiO_2, Fe, P_2O_5, Cl, NO_3, SO_4, Al, susceptibles d'amener des interactions, en particulier dans la source d'émission. Ces interférences ont été déjà signalées dans les ouvrages traitant de cette technique d'analyse[3–6]. Il faut encore noter les perturbations provenant des éléments dosés, la présence d'un élément, en forte concentration, peut gêner les dosages par suite d'une sélection insuffisante des radiations.

Toutes ces causes d'erreurs ont été envisagées en vue de l'élaboration d'une technique d'analyse d'un extrait végétal; plusieurs possibilités peuvent s'offrir dans l'élimination de l'erreur due à de telles interactions: étalonnage avec des solutions contenant les ions gênants, élimination de ces ions de la solution étudiée, enfin correction graphique du résultat en fonction de la teneur des éléments interférents. Ces trois principes ne sont pas partout applicables; ils seront utilisés dans des cas précis.

Dans un problème particulier, on conçoit qu'il est indispensable de connaître la composition moyenne du type d'échantillon à analyser.

De plus, la teneur des éléments varie dans d'assez larges limites; on est amené à établir un certain nombre de solutions standard de composition différente, qui couvrent l'étendue de ces variations. On restreint, ainsi, l'étude des interactions et l'influence du milieu des cendres végétales. C'est ce que nous avons fait dans le cas de l'analyse des échantillons que nous prenons comme exemple: les feuilles d'ananas. Dans une étude préliminaire, nous avons déterminé approximativement les teneurs limites en P, Na, Ca, K, Mg, Al; elles sont exprimées en mg par gramme de feuilles sèches et sont notées dans le tableau I.

Tableau I

P	K	Mg	Na	Ca	Al
1 à 5,6	10 à 42,5	0,125 à 1,75	0 à 0,125	1,25 à 5,75	0,25 à 0,50

On peut encore donner un ordre de grandeur de la concentration de ces éléments dans les solutions d'analyse (2 g de feuilles dans 50 ml):

le phosphore varie de 40 à 225 μg/ml,
le potassium varie de 400 à 1700 μg/ml,
le sodium varie de 0 à 5 μg/ml,
l'aluminium varie de 10 à 20 μg/ml,
le calcium varie de 50 à 230 μg/ml,
le magnésium varie de 5 à 70 μg/ml.

Ces chiffres ont fixé les concentrations limites des solutions étalons.

Dans la mise au point d'une méthode générale applicable à l'analyse végétale, nous devons envisager une étude systématique des interactions:

interactions des éléments entre eux,
interactions des ions étrangers,
interactions des anions,

parmi celles-ci certaines seront sensiblement négligeables; nous les signalons, cependant, puisqu'elles peuvent se présenter dans des cas spéciaux. Il résultera de cette étude, une méthode d'analyse des cations Na, K, Ca, Mg, dans le milieu végétal.

Les propriétés de la méthode seront classiquement: la sensibilité et la précision auxquelles on ajoutera la rapidité, car l'application vise surtout l'analyse en série.

L'appareillage a été décrit récemment[7]; nous en rappelons brièvement le principe: la source est une flamme *air-acétylène* autour de laquelle sont disposés les dispositifs de sélection spectrale et de mesure photoélectrique; le *sodium* est dosé à l'aide des raies λ 5896/9 Å séparées par

filtre interférentiel et mesurées par cellule photovoltaïque au sélénium type «normal»; le *calcium* est mesuré sur la bande de CaO λ 6220 Å séparée par filtre interférentiel et mesurée avec une cellule de même type que le sodium; le *potassium* est mesuré sur ses raies λ 7665/99 Å séparées par écran «Wratten» No. 89 A et mesurées par cellule photovoltaïque au sélénium type «infra rouge»; enfin, le *magnésium* est dosé sur la bande MgO λ 3810 Å séparée par spectrographe à prisme de quartz et mesurée par un récepteur à photomultiplicateur d'électrons.

Les solutions synthétiques et les solutions d'étalonnage sont préparées à partir de *carbonates* purs pour analyse, redissous par la quantité minimum d'acide chlorhydrique.

I. Etude générale des interactions

A. Interactions des cations Na, K, Ca, Mg, entre eux

Les causes d'erreur que nous proposons d'étudier sont les suivantes: sélection insuffisante des émissions spectrales par les filtres ou le prisme, fond spectral provenant d'un élément, interactions dans la source elle-même.

1° Influence du potassium sur les mesures de sodium, calcium et magnésium

La quantité de potassium dans les végétaux est fréquemment dominante à côté des teneurs en calcium, sodium et magnésium. L'interaction provenant du potassium est étudiée à partir de solutions synthétiques de compositions suivantes:

1ère série: K = 100, 200, 400, 800, 1000 μg/ml et dans chaque solution, Na, Ca, Mg = 0;

2ème série: K = 0, 100, 200, 400, 800, 1000 μg/ml et dans chaque solution, Na = 5, Mg = 50 et Ca = 100 μg/ml;
les graphiques d'interactions sont représentés par les courbes des figures 1, 2, 3:

ordonnées, mesures galvanométriques de Ca, Mg, Na.

abscisses, concentration en potassium.

L'examen de ces graphiques montre que l'erreur absolue, positive est plus importante sur le calcium et le magnésium que sur le sodium; par contre, l'erreur relative dont est entaché le dosage de sodium peut être considérable du fait de la faible teneur en sodium des plantes, comme c'est généralement le cas: pour une solution contenant K = 800 μg/ml et Na = 5 μg/ml l'erreur sur Na serait de 100%. On observe que l'influence de K sur Ca et Mg est pratiquement indépendante des concentrations en Ca et Mg, du moins pour ces ordres de grandeurs.

Il est donc indispensable de tenir compte de ces erreurs; on y remédie en ajoutant à chaque solution devant servir d'étalonnage aux dosages de Na, Ca et Mg, une quantité moyenne de potassium, soit 800 μg K/ml,

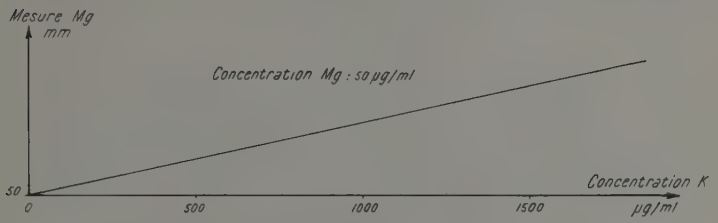


Fig. 1. Influence de K sur Ca

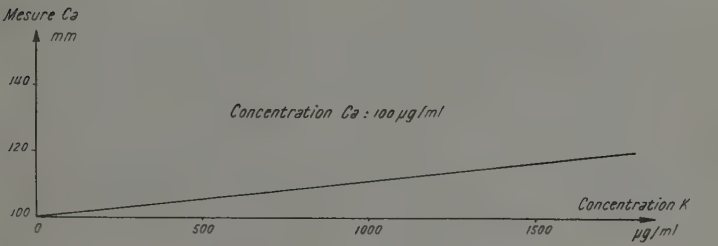


Fig. 2. Influence de K sur Mg

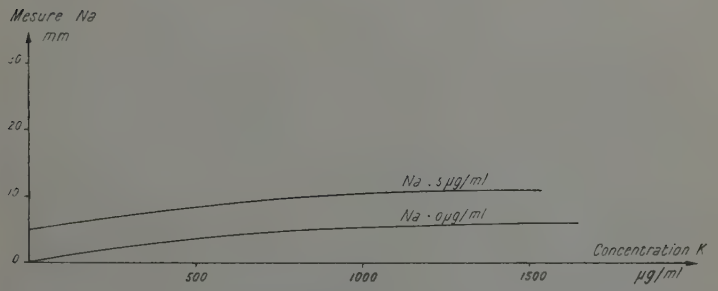


Fig. 3. Influence de K sur Na

dans le cas de l'analyse des feuilles d'ananas que nous prenons comme exemple. Ce procédé présente l'avantage de mettre en jeu des étalons ressemblant au mieux aux solutions étudiées; un graphique d'interaction,

donné Fig. 4 indique la correction galvanométrique, positive ou négative à apporter aux mesures de calcium; on opérerait de la même façon pour corriger les dosages de sodium et magnésium.

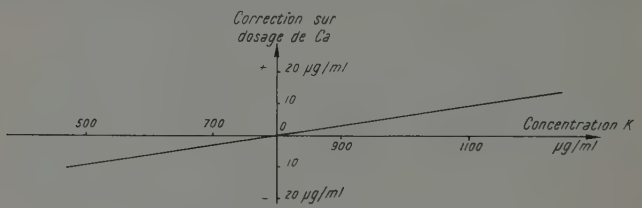


Fig. 4. Correction de dosage de Ca en fonction de K

2° Influence du calcium sur les mesures de sodium, potassium et magnésium

Cette influence a été étudiée avec des solutions titrant de 0 à 200 μg Ca/ml; dans une première série, K, Mg, Na = 0; dans une seconde série, K = 1000 μg/ml, Mg = 100 μg/ml, Na = 20 μg/ml. On constate que l'interaction est négligeable sur K et Mg, et très faible sur le sodium; on peut être amené à en tenir compte pour des concentrations de calcium dépassant 200 μg/ml dans la solution analysée. L'interaction est indépendante des concentrations en K, Mg, Na.

3° Influence du magnésium sur les dosages de sodium, potassium et calcium

Les solutions d'étude titrent en Mg de 0 à 200 μg/ml; K, Ca, Na = 0 dans une première série, et, K = 1000 μg/ml, Ca = 150 μg/ml Na = = 20 μg/ml dans une seconde série. Dans ces ordres de concentrations, l'influence du magnésium est pratiquement négligeable sur le dosage des autres éléments; il existe cependant une légère interaction pour des concentrations de magnésium supérieures à 500 μg/ml; de toutes façons, il sera plus exact d'incorporer aux solutions étalons, une dose moyenne de magnésium.

4° Influence du sodium sur les dosages de potassium, calcium, magnésium

Dans les végétaux, que nous avons eus à étudier, les faibles concentrations de sodium ont toujours été sans influence sur les autres dosages. Pour des concentrations de sodium supérieures à 100 μg/ml, il apparaît une faible interaction sur le dosage du calcium. On en tiendra compte éventuellement.

En résumé, seul le potassium perturbe d'une erreur positive les déterminations de calcium, magnésium et sodium; c'est pratiquement, la seule cause d'erreur dont il faudra tenir compte; tous ces résultats ne valent que pour les concentrations signalées et pour *l'appareil* mis en œuvre.

B. Influence des éléments étrangers

Nous envisageons dans cette partie du travail l'influence des éléments ou composés susceptibles de se trouver dans la solution des cendres végétales; ce sont surtout les cations Fe, Al, Mn, ou leurs composés. Ces éléments, en général en faible quantité, peuvent être cause d' erreur sur certains dosages et en particulier sur le dosage de calcium.

1° Influence de l'aluminium

L'affaiblissement très sensible des émissions spectrales du calcium par l'aluminium est un fait connu[8]. L'étude des végétaux exige d'en tenir compte puisqu'on est en présence de quantités non négligeables

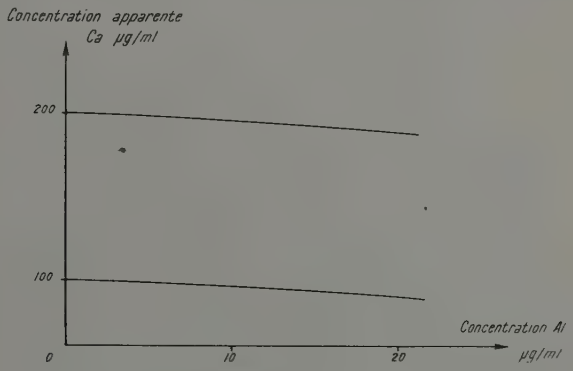


Fig. 5. Influence de Al sur Ca

d'aluminium. Nous avons examiné cette interaction en vue de l'analyse minérale des feuilles d'ananas. Sur une série de ces échantillons (provenant de Guinée Française), l'aluminium variait de 10 à 20 µg/ml dans les solutions photométrées. Dans ces conditions le taux de perturbation des dosage des potassium, magnésium et sodium est pratiquement nul; seul le *calcium* est influencé par la présence d'aluminium. L'interaction a été étudiée sur des solutions complexes analogues aux solutions de cendres d'ananas. Les courbes de la figure 5 montrent l'action de l'aluminium sur deux séries de solutions contenant toutes 800 µg K/ml, 40 µg Mg/ml,

100 μg P/ml et respectivement 100 et 200 μg de Ca par ml. Dans chaque série, l'aluminium est variable de 10 à 20 μg/ml; l'erreur absolue qui en résulte sur le dosage de Ca varie de 4 à 8 μg Ca/ml. Si l'on détermine la concentration de calcium par rapport à des étalons contenant une valeur moyenne de 15 μg Al/ml, on aura pratiquement éliminé l'erreur due à l'aluminium; en effet, pour une concentration de calcium de 100 μg/ml l'erreur relative maximum sera de $\pm 2\%$.

2° Influence du fer

Cet élément peut varier dans les végétaux entre 100 et 2000 p. p. m., selon les espèces; si les solutions destinées à l'analyse végétale sont préparées à raison de 4 g de produit sec dans 100 ml de solution, l'extrait

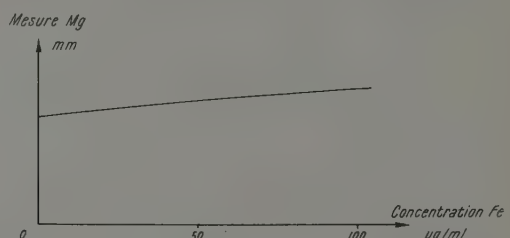


Fig. 6. Influence de Fe sur Mg

peut titrer en fer jusqu'à 80 μg Fe/ml. L'action du fer est étudiée à partir de solutions titrant: Na = 20 μg/ml, K = 800 μg/ml, Mg = 40 μg par ml, Ca = 100 μg/ml; la concentration en fer est variable de 0 à 100 μg par ml. On ne trouve pratiquement pas de perturbation sur Na, K et Ca; seul le *magnésium* subit une interférence due à la présence de raies du fer dans la région située vers λ 3700 Å; le magnésium présente des bandes spectrales dues à MgO dont les plus intenses sont à λ 3710 Å et λ 3840 Å environ; la moins perturbée est la seconde; la courbe de perturbation de cette bande par la présence de fer est représentée sur la figure 6: dans une solution contenant 40 μg Mg/ml et 100 μg Fe/ml le dosage du magnésium subira une erreur par excès de 16%; il est donc indispensable d'en tenir compte et pour des concentrations de fer supérieures à 20 μg/ml il convient de l'éliminer.

3° Influence du manganèse

Cet élément est très variable suivant les cultures et les sols, nous avons rencontré des végétaux contenant jusqu'à 5000 p. p. m. de manganèse; la solution végétale destinée à l'analyse par photométrie de

flamme peut ainsi titrer jusqu'à 200 μg de Mn par ml; l'influence du manganèse sur les dosages de Na, K, Ca, Mg est étudiée sur solutions renfermant: Ca, 100 μg/ml, K, 400 μg/ml et Mg, 40 μg/ml, le *manganèse* étant variable de 0 à 400 μg/ml. Les graphiques d'interaction sont établis

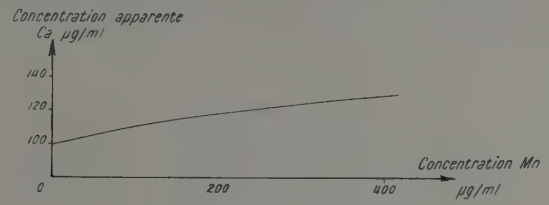


Fig. 7. Influence de Mn sur Ca

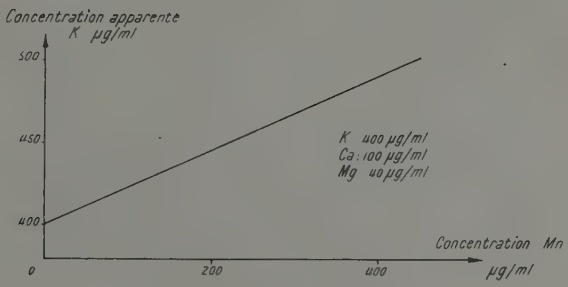


Fig. 8. Influence de Mn sur K

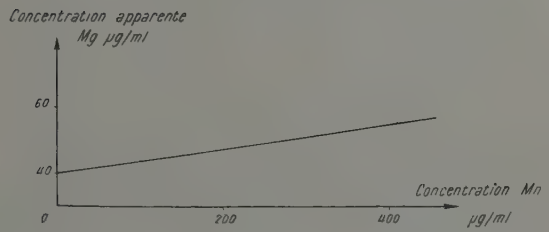


Fig. 9. Influence de Mn sur Mg

en *concentrations apparentes* de Ca, K, Mg en fonction de la concentration de Mn; nous entendons par concentrations apparentes, les concentrations déterminées par rapport à des solutions étalons ne contenant que les cations K, Ca, Mg, compte tenu des interactions des cations entre eux; les figures 7, 8, 9 montrent l'influence de Mn sur les dosages de Ca, K, Mg.

L'interaction peut être négligée si le manganèse ne dépasse pas 50 μg/ml dans des solutions contenant Ca, K, Mg à des concentrations de l'ordre de celles données.

Cette interaction résulte des nombreuses bandes spectrales que présente le manganèse dans la flamme; la *sélection par filtre* est insuffisante pour doser dans ce cas les cations Na, K, Ca; on aurait de meilleurs résultats en employant la dispersion par prisme.

C. Interactions des anions

Dans la reprise des cendres végétales par l'acide chlorhydrique et après séparation de la silice, la solution des cations contient, comme anions, principalement l'ion Cl^-, en léger excès. Les solutions d'étalonnage doivent comporter ce même anion; nous donnons plus loin la préparation de ces solutions. Nous avons montré, dans un travail précédent la différence des étalonnages obtenus avec des chlorures, des nitrates, ou des sulfates. Dans le cas présent il faut envisager la présence, en plus ou moins grande quantité, d'ions NO_3^-, SO_4^{2-}, PO_4^{3-} dans les solutions photométrées; ces anions ne sont, en effet, pas éliminés dans la reprise à l'acide chlorhydrique. Les interactions dues à NO_3^- et SO_4^{2-} sont étudiées sur des solutions de chlorures additionnées de quantités croissantes d'ions NO_3^- et SO_4^{2-}. Dans des solutions titrant K = 400 μg/ml, Ca = 100 μg/ml, Mg = 40 μg/ml, Na = 20 μg/ml, les anions nitrique et sulfurique sont sans influence sur les dosages lorsque les concentrations en NO_3^- et SO_4^{2-} ne dépassent pas 400 μg/ml. Pour de plus fortes teneurs en sulfate on doit craindre une interaction sur le calcium; elle sera d'ailleurs facilement compensée avec l'introduction dans les solutions étalons d'une quantité convenable d'ions sulfuriques.

L'influence de *l'ion phosphorique* de loin la plus importante, dans l'analyse végétale par spectrophotométrie de flamme est étudiée dans le paragraphe suivant.

D. Interactions du phosphore

1° Interaction sur le calcium

Le rôle important du *phosphore* sur le dosage du calcium dans les cendres végétales a été souvent signalé. Cette interférence typique se traduit par une dépression de l'intensité des radiations spectrales de Ca et CaO dans la flamme; cette dépression est fonction de la concentration en phosphore[3–6]. Le graphique de la figure 10 montre la variation de l'intensité de l'émission de CaO à λ 6220 Å, à partir de solutions de chlorure de calcium titrant en Ca 200 μg/ml et contenant des teneurs croissantes en phosphore; on remarque que la courbe tend vers un palier au delà d'une certaine concentration en phosphore. Une interaction analogue

est observée sur la raie de Ca à 4226 Å. Il est donc essentiel de tenir compte de la présence de phosphore dans le dosage du calcium.

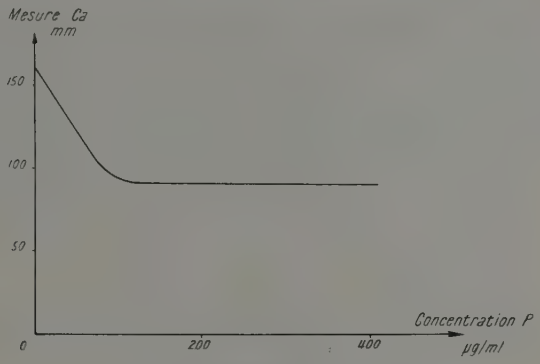


Fig. 10. Influence de P sur Ca

Nous envisageons dans la suite le comportement des émissions de Ca et CaO dans la flamme alimentée avec une solution végétale. L'interférence *phosphore-calcium* est étudiée dans un milieu contenant du magnésium et du potassium en concentrations variables (nous négligerons le sodium, cet élément étant en général en quantité trop faible pour

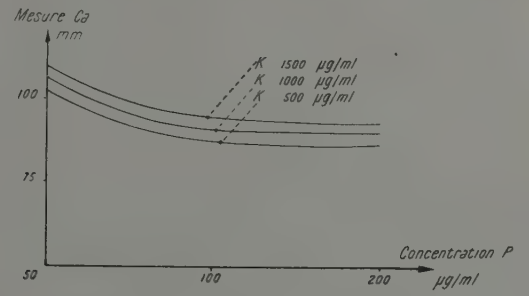


Fig. 11. Influence de K sur l'interaction P/Ca

modifier l'interaction). Les graphiques, traduisant l'interaction expriment la concentration apparente de calcium en fonction du phosphore présent: la *concentration apparente* de calcium est celle déterminée à partir d'un étalonnage exempt de phosphore.

L'influence de Mg et de K sera étudiée successivement sur l'interaction phosphore-calcium, dans un domaine de concentrations analogues à

celles des solutions de feuilles d'ananas. L'analyse de solutions à teneur fixe en calcium et potassium (Ca = 100 μg/ml et K = 800 μg/ml) et à teneur variable en phosphore d'une part, et en magnésium d'autre part (Mg variable de 20 à 150 μg/ml), montre que le magnésium n'intervient pas, à ces concentrations, dans la perturbation des émissions du calcium par le phosphore.

L'action du potassium est étudiée de la même façon, à partir de solutions à teneurs fixes en calcium et magnésium, et à teneurs variables

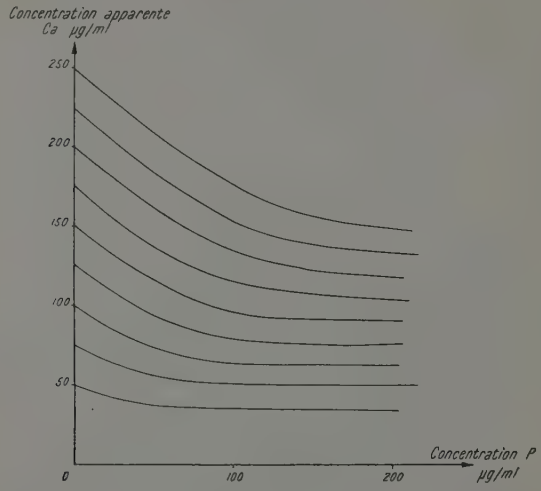


Fig. 12. Courbes de concentrations apparentes de Ca en fonction de P

en phosphore et potassium (K: variable de 0 à 1500 μg/ml); on en déduit des courbes d'interaction P/Ca pour ces trois teneurs en potassium (fig. 11). On voit que la présence de potassium modifie la détermination du calcium en présence du phosphore; la valeur du calcium apparent augmente avec la teneur en potassium; on retrouve le résultat déjà obtenu en l'absence de phosphore (fig. 4).

En résumé, le magnésium, jusqu'à 200 μg/ml n'influe pas sur la détermination du calcium en présence de phosphore; le potassium entache la mesure du calcium en présence de phosphore d'une erreur positive indépendante du phosphore et proportionnelle à la concentration en potassium.

Pour étudier l'action du phosphore lui-même sur le dosage du calcium nous avons constitué des séries de solutions contenant toutes: 800 μg

de K par ml et 40 μg de Mg par ml (valeurs moyennes de solutions d'ananas), et respectivement: 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, et 250 μg de Ca par ml.

A toutes ces solutions nous avons ajouté des quantités croissantes de phosphore: 0 à 200 μg/ml. La photométrie de flamme de ces séries de solutions conduit aux courbes de la figure 12. Ces graphiques donnent la concentration apparente du calcium en fonction de la concentration en phosphore, en présence de 800 μg/ml de potassium et 40 μg/ml de magnésium. On peut faire les remarques suivantes: en présence de magnésium et surtout de potassium, le palier de ces courbes est atteint pour des concentrations en phosphore plus élevées qu'en l'absence

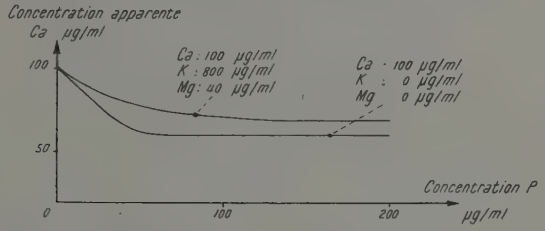


Fig. 13. Influence de K et Mg sur l'interaction P/Ca

de K et Mg. Ainsi, pour 100 μg/ml de calcium, le palier est atteint à partir de 75 μg de P/ml en l'absence de K et Mg; en présence de ces éléments il n'est atteint qu'à 125 μg de P/ml. De plus le palier des courbes est situé plus haut en milieu complexe qu'en l'absence des mêmes éléments (fig. 13). Enfin, quand la concentration de calcium augmente, le palier est rejeté vers la droite, c'est-à-dire, vers les concentrations croissantes en phosphore.

2° Interaction sur le potassium et le magnésium

L'interaction du phosphore sur le potassium et le magnésium est beaucoup plus réduite que l'interaction sur le calcium. Nous avons établi, là encore, les courbes de concentrations apparentes, de K en fonction des quantités croissantes de phosphore, en présence de 100 μg de Ca par ml et 40 μg de Mg par ml. L'interaction P sur K est montrée graphiquement (fig. 14). On voit que, entre 500 et 1500 μg de K par ml, l'erreur absolue introduite par la présence d'une quantité donnée de phosphore est constante; par exemple, pour 200 μg de P par ml, l'erreur absolue est de 50 à 60 μg/ml, erreur qui reste la même quand le potassium varie de 500 à 1500 μg/ml; l'erreur relative, par contre, est pour ces trois concentrations de K, respectivement: 10%, 5% et 3,5%. La courbe

de la figure 15 donne l'erreur dont est entachée la concentration réelle du potassium en fonction de quantités croissantes de phosphore; cette courbe est valable pour des teneurs en K s'étendant de 500 à 1500 μg/ml.

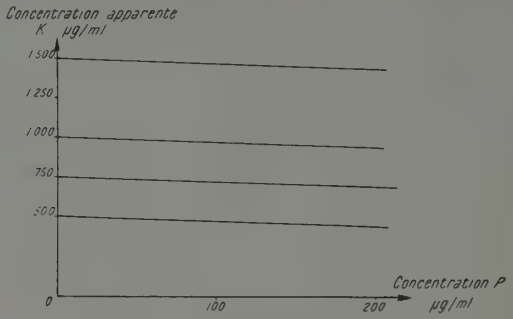


Fig. 14. Interaction P sur K

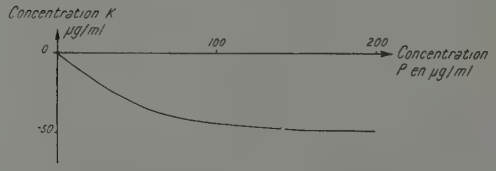


Fig. 15. Courbe de l'erreur sur le dosage de K en fonction de P

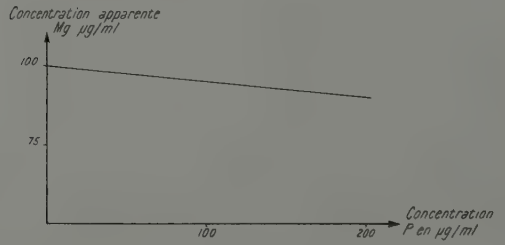


Fig. 16. Interaction P sur Mg

Cette courbe permet de trouver la concentration réelle de K connaissant la quantité de phosphore présent dans le milieu.

L'influence du phosphore sur le dosage du magnésium est étudiée de la même façon; sur des solutions ne contenant que les éléments Mg et P en milieu chlorhydrique, on observe une dépression de l'émission de MgO à λ 3810 Å (fig. 16); en milieu complexe, par contre, c'est-à-dire

en présence de calcium et potassium, à des concentrations analogues aux solutions de cendres végétales, l'interaction phosphore sur magnésium devient négligeable (compte tenu de l'action K sur Mg, déjà signalée).

Notons, enfin, que la présence de phosphore est sans action sur le sodium, du moins, lorsqu'il est à une concentration inférieure à 100 μg/ml.

II. Détermination des cations Na, K, Ca, Mg, dans les végétaux

L'étude précédente montre que l'on doit tenir compte de la nature du milieu étudié et en particulier du phosphore présent dans la solution; bien plus, la sensibilité de l'interaction phosphore-calcium exige que l'on connaisse la concentration exacte de phosphore. Les auteurs utilisant la photométrie de flamme à l'analyse végétale[9-17] ont souligné ces difficultés. Plusieurs possibilités s'offrent dans le dosage:

étalonner le spectrophotomètre à l'aide de solutions contenant des doses convenables de phosphore,

tenir compte de la concentration en phosphore dans les solutions végétales à l'aide d'une correction graphique et en se référant à un étalonnage obtenu avec des solutions exemptes de phosphore,

enfin, éliminer le phosphore.

Nous discuterons chacun de ces trois procédés pour en dégager une technique analytique applicable à l'analyse en série.

Il est logique de rechercher à étalonner l'appareil avec des standards contenant du phosphore, mais l'examen des graphiques d'interférence P—Ca montre qu'une faible variation dans la concentration en phosphore, modifie de façon importante la valeur des émissions du calcium, ceci, particulièrement pour des concentrations entre 0 et 100 μg de P par ml, ce sont des teneurs habituellement rencontrées dans les solutions végétales. Il n'est alors plus question de placer dans les solutions étalons une valeur moyenne en phosphore: celui-ci devra s'y trouver à une concentration égale à celle de la solution des cendres, à mieux que 4% près. Pour cette raison, nous n'avons pas retenu le principe de cette technique.

Nous avons vu, par contre, qu'au delà d'une certaine concentration de phosphore, l'interaction P — Ca tend vers un palier, autrement dit, au dessus d'un certain seuil, l'augmentation de la concentration de phosphore devient sans influence sur le dosage de calcium; il semble donc théoriquement possible d'opérer dosages et étalonnages sur des solutions renfermant une quantité suffisante de phosphore pour être dans la région de palier de l'interférence. Cette méthode présente toutefois, l'inconvénient de réduire la sensibilité du dosage de calcium; nous l'avons appliquée à des solutions de cendres végétales, dosées comparativement par méthode chimique: la discordance des résultats atteignait fréquemment

5 à 10%; on peut l'attribuer à la complexité différente des solutions analysées.

Il semble préférable d'effectuer l'analyse directement sur la solution des cendres en milieu chlorhydrique, et d'apporter au résultat une correction tenant compte du phosphore. Nous exposons ci-dessous le détail de cette technique pour envisager ensuite une méthode comportant l'élimination des ions phosphoriques sur colonnes d'échangeurs d'ions.

A. Dosage des cations Na, K, Ca, Mg, avec correction de phosphore

Nous traiterons, là encore l'exemple d'analyse des feuilles d'ananas; la plupart des autres cas qui restent d'ailleurs voisins en découleront puisqu'il suffira de constituer des étalonnages appropriés.

1° Préparation des solutions de cendres végétales

Les feuilles séchées à 100° sont coupées en lanières de 4 mm de large, elles sont séchées à nouveau à 100° et broyées grossièrement par agitation dans un »Mixer«; 2 à 4 g de feuilles ainsi préparées sont calcinés à 450° dans un four à moufle pendant 15 à 18 heures. Les cendres sont reprises par le minimum d'acide chlorhydrique concentré, puis évaporées à sec; on reprend à nouveau par 2 ml environ d'acide chlorhydrique et 10 ml d'eau bouillante pour dissoudre; on jauge après filtration à 100 ml. La solution des cendres est prête pour la photométrie de flamme.

2° Préparation des solutions étalons

Les solutions d'étalonnage sont préparées à partir de carbonates repris par l'acide chlorhydrique; elles ont les compositions suivantes:

a) Solutions d'étalonnage de potassium:

six solutions standards titrant en potassium:

0 — 50 — 100 — 200 — 400 — 800 μg par ml; chacune des solutions titre: Ca = 100 μg/ml, Mg = 40 μg/ml, Na = 0 μg/ml, P = 0 μg/ml, Al = 15 μg/ml.

b) Solutions d'étalonnage titrant en calcium:

0 — 25 — 50 — 100 — 200 μg par ml; chacune des solutions titre: K = 800 μg/ml, Mg = 40 μg/ml, Na = 0 μg/ml, P = 0 μg/ml, Al = 15 μg/ml.

c) Solutions d'étalonnage de magnésium:

cinq solutions titrant en magnésium:

0 — 25 — 50 — 100 — 200 μg par ml, chacune des solutions titre: K = 800 μg/ml, Ca = 100 μg/ml, Na = 0 μg/ml, P = 100 μg/ml, Al = 15 μg par ml.

d) Solutions d'étalonnage de sodium:

quatre solutions titrant en sodium;

0 — 5 — 10 — 20 μg par ml; chaque solution titre: K = 800 μg/ml, Ca = 100 μg/ml, Mg = 40 μg/ml, P = 100 μg/ml, Al = = 15 μg/ml.

3° Etablissement des courbes de correction

On peut récapituler les diverses interactions rencontrées dans l'analyse végétale, et qui impliqueront chaque fois des corrections: interaction P sur Ca, — P sur K, — K sur Mg, — K sur Na, — Ca sur Na.

a) Graphique des concentrations apparentes de calcium en fonction du phosphore.

Ces graphiques ont été donnés figure 12; ils montrent, pour diverses concentrations de calcium, en présence de quantités variables de phosphore, les valeurs apparentes de calcium, valeurs obtenues à partir d'un étalonnage exempt de phosphore. Nous désignerons ces courbes:

$$\text{Conc } (Ca)_a = F \text{ Conc } (P). \qquad (1)$$

Les neuf courbes de la figure 12 correspondent à neuf concentrations croissantes de calcium de 50 à 250 μg de Ca par ml.

b) Courbe de diminution apparente de concentration de K en fonction des quantités croissantes de P

Nous avons vu que la courbe (fig. 14) qui donne l'erreur absolue (diminution apparente de la concentration de K) dont est entachée la concentration réelle de K en fonction de quantités croissantes de P est valable pratiquement pour des teneurs de K variant de 500 à 1500 μg de K par ml. Pour tracer cette courbe nous utilisons des solutions contenant toutes 800 μg de K par ml, 40 μg de Mg par ml, 15 μg de Al par ml, 100 μg de Ca par ml et respectivement 0, 25, 50, 100 et 200 μg de P par ml. Après conversion des déviations galvanométriques en concentrations apparentes de K, $(K)_a$, on peut tracer la courbe de la diminution apparente de K en fonction de la teneur en (P); cette courbe est encore désignée:

$$\text{Conc } (K)_a = F \text{ Conc } (P). \qquad (2)$$

La pente de cette courbe est indépendante de la concentration de K.

c) Courbe de l'augmentation apparente de la concentration de Ca en fonction de quantités croissantes de K

Nous avons vu que cette augmentation est, dans une large mesure indépendante de la présence de phosphore, et qu'elle est proportionnelle à la concentration de potassium, du moins à partir de 500 μg de K par ml. La courbe représentative (analogue à celle de la figure 4) est obtenue à l'aide de solutions contenant toutes 100 μg de Ca par ml, 40 μg de Mg par ml, 15 μg de Al par ml, 100 μg de P par ml et respectivement: 0, 500, 800, 1000, 1500 μg de K par ml; cette courbe est désignée:

$$\text{Conc } (Ca)_a = F \text{ Conc } (K). \qquad (3)$$

Cette courbe est rectiligne et pratiquement indépendante de la concentration de calcium entre 0 et 200 μg de Ca par ml.

d) Courbe de l'augmentation apparente de la concentration de Mg en fonction de quantités croissantes de K

Nous devons rappeler que la mesure de Mg n'est pratiquement pas influencée, en solutions complexes, par les variations de concentrations de Ca et P, ceci dans d'assez larges limites. La courbe d'augmentation apparente de Mg en fonction de K est établie à partir de solutions contenant toutes: 100 μg de Ca par ml, 40 μg de Mg par ml, 100 μg de P par ml, 15 μg de Al par ml et respectivement: 0, 500, 800, 1000, 1500 μg de K par ml; cette courbe est une droite, analogue à la courbe de la figure 2, elle est désignée:

$$\text{Conc (Mg)}_a = \text{F Conc (K)}. \qquad (4)$$

Cette courbe est indépendante de la concentration de magnésium.

e) Courbe d'augmentation apparente de la concentration de sodium en fonction du potassium

Cette courbe est établie à partir de solutions contenant toutes: 100 μg de Ca par ml, 40 μg de Mg par ml, 100 μg de P par ml, 15 μg de Al par ml, et respectivement: 0, 500, 800, 1000, 1500 μg de K par ml; la courbe est désignée:

$$\text{Conc (Na)}_a = \text{F Conc (K)}. \qquad (5)$$

f) Courbe d'augmentation apparente du sodium en fonction du calcium

La courbe est établie avec des solutions contenant toutes: 800 μg de K par ml, 40 μg de Mg par ml, 100 μg de P par ml, 15 μg de Al par ml, et

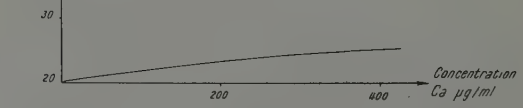


Fig. 17. Courbe de correction du dosage de Ca en fonction de Na

20 μg de Na par ml, et respectivement: 0, 25, 50, 100, 200, 300 μg de Ca par ml. La courbe (fig. 17) est désignée:

$$\text{Conc (Na)}_a = \text{F Conc (Ca)}. \qquad (6)$$

Tracées en concentrations apparentes, et non en déviations galvanométriques, toutes ces courbes sont reproductibles, à condition toutefois, que les conditions opératoires d'excitation spectrale et de sélection des radiations soient, elles-mêmes reproductibles, conditions faciles à réaliser. Nous l'avons, d'ailleurs, vérifier expérimentalement.

4° Détermination préalable du phosphore

On détermine, au moyen d'une méthode rapide la teneur en phosphore de la solution d'échantillon à analyser. Soit (P) cette concentration. Nous utilisons une méthode colorimétrique fondée sur la coloration bleue obtenue par réduction du complexe phosphomolybdique par l'hydroquinone: méthode *Macheboeuf* et *Del'Sal*[18]. Par cette technique on peut opérer une trentaine d'échantillons par jour.

5° Détermination des cations Na, K, Ca, Mg. Mode Opératoire

Les courbes d'étalonnage sont définies par la mesure galvanométrique de l'intensité d'une radiation caractéristique en fonction de la concentration du cation déterminé; en se référant à ces courbes, on détermine les concentrations apparentes de chaque élément: $(Ca)_a$, $(K)_a$, $(Mg)_a$, $(Na)_a$; on utilise ensuite les courbes d'interactions pour obtenir les concentrations réelles:

a) Concentration réelle de K

Cette valeur est fonction de la concentration de phosphore (P); on connaît donc $(K)_a$ et (P); au moyen de la courbe (2) on détermine la diminution apparente de la concentration de K pour la concentration de phosphore (P) et l'on ajoute cette valeur à $(K)_a$.

b) Concentration réelle de Ca

On doit tenir compte de la présence de potassium et de phosphore. La concentration apparente trouvée pour le calcium: $(Ca)_a$ est d'abord

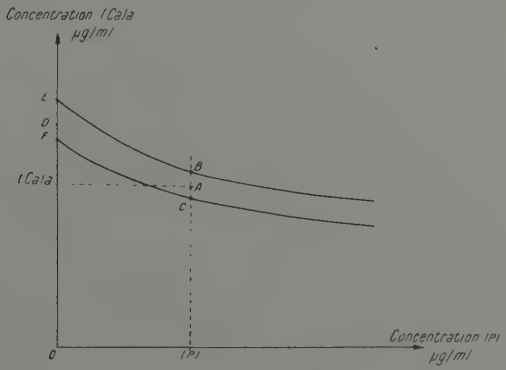


Fig. 18. Correction du dosage de Ca en fonction de P

corrigée d'une valeur convenable tenant compte de la concentration de potassium; soit $(Ca)_a$ cette nouvelle valeur de Ca, non corrigée du phosphore; la correction de $(Ca)_a$ s'effectue de la manière suivante: on utilise

les graphiques de la figure 12; l'analyse d'une solution inconnue donne pour Ca une valeur $(Ca)_a$; concentration apparente de Ca, corrigée de K, mais non corrigée de P, soit (P) la concentration de phosphore dans la solution. Les coordonnées $(Ca)_a$ et (P) définissent un point A sur les graphiques de la figure 12; ce point est situé entre deux des courbes du graphique; la figure 18 représente schématiquement ces courbes et le point A; soient B et C les intersections de la verticale en A avec les deux courbes, E et F les intersections de l'axe des ordonnées avec les courbes. A la concentration apparente $(Ca)_a$ correspond une concentration réelle pour Ca: $(Ca)_r$ égale à l'ordonnée OD, le point D étant défini par la relation

$$\frac{DF}{EF} = \frac{AC}{BC}$$

on en déduit: $(Ca)_r = OF + \frac{AC \times EF}{BC}$.

c) Concentration réelle de Mg

Au moyen de la relation (4), on détermine l'augmentation apparente de Mg, valeur que l'on retranchera de $(Mg)_a$.

d) Concentration réelle de Na

La mesure galvanométrique donne pour Na une valeur $(Na)_a$, que l'on corrigera d'abord d'une valeur tenant compte de (K) selon la courbe Conc $(Na)_a = F(K)$, cette concentration est ensuite corrigée d'une nouvelle valeur donnée par la courbe Conc $(Na)_a = F(Ca)$.

Discussion

La connaissance des interférences nous a permis d'élaborer une méthode rapide de détermination des cations, qui ne nécessite pas, en général, d'élimination préalable. La connaissance, aussi exacte que possible de la complexité du milieu étudié est un facteur essentiel qui doit permettre la constitution des solutions d'étalonnage convenables. Dans la détermination des concentrations réelles, nous n'avons tenu compte, comme seuls facteurs correctifs, que des concentrations des éléments: Na, Ca, K, Mg, P, Al; nous avons cependant montré que l'on devait envisager des interactions en présence d'éléments tels que le fer et le manganèse; il n'est pas nécessaire de connaître avec précision les concentrations de ces éléments puisque les courbes d'interactions sont de pente faible; dans le cas où une correction s'imposerait, on pourra soit incorporer l'élément aux solutions étalons, soit établir des graphiques de correction analogues à ceux déjà présentés.

Cependant, la méthode nécessite un dosage préalable précis du phosphore, ce qui réduit notablement la rapidité de l'analyse en série.

La précision des dosages est variable suivant les cations, et l'erreur est fonction d'une part, de la mesure galvanométrique propre, d'autre

part, des corrections apportées à chaque dosage: ces corrections n'ont pas un caractère absolu; elles visent à réduire à une valeur minimum l'erreur qui entacherait le dosage si l'on n'en tenait pas compte. L'erreur moyenne d'appareillage est inférieure à 1% pour les éléments Na, K, Ca; elle peut être plus forte pour le magnésium (inférieure à 3%) en effet, la photométrie de flamme du magnésium exige un récepteur photoélectrique hautement sensible et par là moins stable, la valeur importante du fond spectral contribue encore à augmenter cette erreur. Quant aux erreurs résultant des interférences, elles sont inférieures à 3%, pour Na, K, Mg, elle peut atteindre 4% sur le dosage du calcium, du fait de la forte interaction du phosphore.

A titre de vérification expérimentale de la méthode, des analyses chimiques comparatives ont été faites; nous donnons plus loin quelques résultats, dans un tableau récapitulatif. Il apparaît que les écarts entre l'analyse spectrophotométrique et l'analyse chimique sont, en général, pour le potassium, inférieurs à 4%; pour le magnésium, inférieurs à 5% et pour le calcium, inférieurs à 6%. Si ces différences peuvent pour une part, être imputées à la technique chimique, nous verrons cependant que l'on aboutit à une meilleure concordance dans la méthode exposée plus loin où intervient une séparation des anions et en particulier des ions phosphoriques sur colonnes d'échangeur d'ions.

B. Dosage des cations Na, Ca, K, Mg, après séparation du phosphore sur colonne d'échangeur d'ions

Pour réduire les erreurs liées à la technique des corrections graphiques, il apparaît nécessaire de rechercher une technique d'élimination du phosphore; les échangeurs d'ions présentent plusieurs avantages: outre la réduction de l'erreur de dosage, il devient inutile de procéder au dosage de phosphore dans les solutions analysées, et comme on le verra, on élimine du même coup les autres anions: NO_3^- et SO_4^{2-}, pour ne conserver, dans la solution photométrée que le seul anion Cl^- ce fait supprime donc les erreurs liées à la présence multiple d'anions.

Le principe de la méthode est une séparation anions-cations sur résine synthétique échangeur d'ions. On peut, soit fixer les cations sur résine convenable (cationite) qui laissera passer les anions, et éluer ensuite les cations à l'acide chlorhydrique, soit fixer les anions, en particulier l'anion phosphorique sur résine anionite, les cations seront dosés dans l'éluat. Quelques auteurs[19–22] ont appliqué le principe de ce fractionnement à l'analyse des cations par photométrie de flamme.

1° Séparation du phosphore sur cationite

La solution des cendres végétales traversant une colonne de résine absorbant les cations laissera passer dans l'effluant la totalité des anions;

les cations seront élués à l'acide chlorhydrique 3 N; l'éluat est évaporé à sec et redissous à l'eau distillée; la solution est photométrée comparativement à des étalons contenant les cations sous forme de chlorures. Il existe maintenant une grande variété de résines synthétiques[23–25] de propriétés différentes susceptibles d'utilisation; nous avons étudié la séparation sur *Dowex 50* et sur *Allassion CS*.

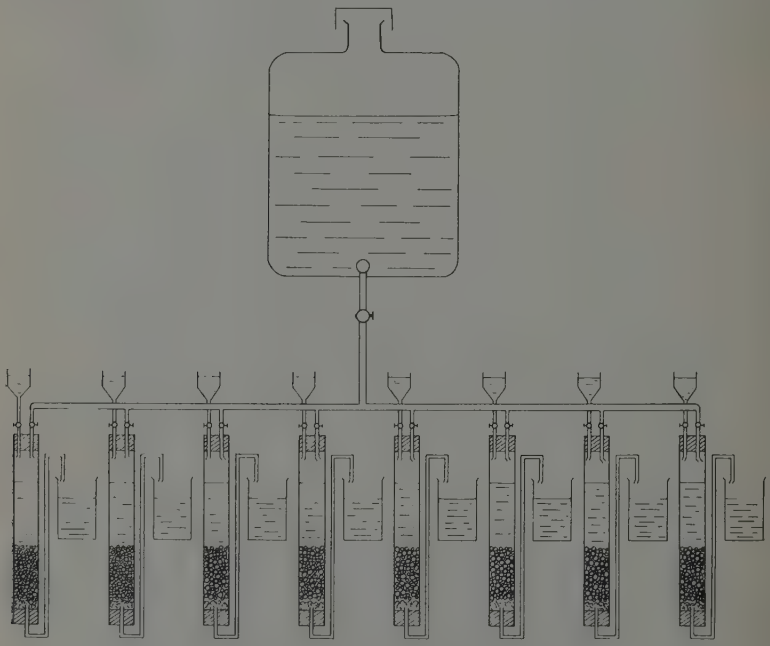


Fig. 10. Schéma de montage pour fractionnements en série

Séparation sur Allassion CS

Cette résine fixe fortement les cations, sa capacité est de 2 meq par gramme. Toute séparation est fonction de plusieurs facteurs: dimensions de la colonne, nature de l'éluant, vitesse d'élution. Nous avons étudié chacun de ces facteurs pour déterminer les meilleures conditions de fractionnements applicables à l'analyse en série. Les solutions synthétiques étudiées renfermaient dans 25 ml: 40 mg de K, 4 mg de Mg, 10 mg de Ca; le phosphore est en quantité croissante dans une série de solutions. La solution (25 ml) est introduite en haut de la colonne de résine: un lavage

à l'eau distillée entraîne les anions; une élution à l'acide chlorhydrique redissout ensuite les cations fixés; l'éluat est recueilli, évaporé à sec pour éliminer l'excès d'acide, et finalement repris à l'eau distillée. Le dispositif expérimental est représenté figure 19. Une quantité de 8 à 12 g de résine permet une séparation quantitative; une quantité de 50 mg de phosphore est éluée avec 100 ml d'eau, les cations sont élués par 125 ml d'acide. La vitesse d'élution est de deux gouttes par seconde.

Pour la séparation d'une plus faible quantité de phosphore (10 mg de phosphore total), une quantité de quatre grammes de résine peut convenir. L'emploi d'acide chlorhydrique à plus faible dilution nécessite un plus grand volume d'éluant, soit 400 ml d'acide normal.

Parmi les autres résines étudiées, mais qui ne nous ont pas paru satisfaisantes, citons la *Dowex 50* (hydrocarbure sulfoné à forte capacité d'échange); nous n'avons pas obtenu avec ces résines des conditions expérimentales suffisamment reproductibles pour être applicables à l'analyse en série.

2° Séparation du phosphore sur anionite

Sur ces résines, les anions sont théoriquement fixés tandis que les cations passent dans l'éluat. Nous avons étudié les résines suivantes *Dowex 2*, *Allassion CA*, *Amberlite IR 400* et *Amberlite IR 4 B*. Les trois premières, de type fortement basiques n'ont pas donné satisfaction: les ions phosphoriques n'étaient pas retenus quantitativement par l'adsorbant et leurs présences étaient constatées dans l'éluat (réactif molybdique); le dosage du calcium s'en trouvait perturbé par défaut selon la loi d'interaction déjà étudiée. Les fractionnements sur *Amberlite IR 4 B* ont, par contre, toujours été quantitatifs; nous donnons ci-dessous les conclusions de l'étude faite sur cette résine. L'*Amberlite IR 4 B* est de type faiblement basique, sa capacité d'échange est de 10 meq par gramme. Quelques solutions synthétiques analogues, en composition aux solutions végétales, ont été fractionnées; elles contenaient toutes: Ca = 400 μg par ml, le phosphore était en quantité croissante dans chacune; le dispositif expérimental est analogue à celui utilisé avec les résines cationites. Un volume de 25 ml de solution est versé sur la résine; après écoulement du liquide au-dessus de la colonne de résine, les cations non fixés sont élués par simple lavage à l'eau distillée ou à l'eau additionnée d'acide chlorhydrique (HCl, 0,015 N).

Des essais ont été faits avec différentes hauteurs de colonnes, correspondant à 2, 4, 8 g de résine. On remarque un faible étalement de l'élution avec l'augmentation de la hauteur de colonne; dans les trois cas, la totalité des cations est éluée dans un volume de 100 ml. Le phosphore était recherché, dans chaque fraction d'éluat, il résultait qu'une

quantité de 4 g de résine était suffisante pour fixer jusqu'à 50 mg de phosphore; pour de plus fortes teneurs en phosphore, on utilisera 6 à 8 g de résine.

Les conditions expérimentales qui ont donné les meilleurs résultats sur plusieurs séries de fractionnements de solutions synthétiques sont les suivantes:

volume de solution initiale: 25 ml,
diamètre de colonne: 10 mm,
quantité de résine: 4 g,
nature de l'éluant: eau distillée ou HCl 0,015 N,
débit de l'éluant: deux gouttes par seconde,
volume de l'éluant: 100 ml.

3° Technique expérimentale de dosage des cations avec fractionnement sur Amberlite *IR 4 B*

Nous retenons pour l'analyse en série, l'échangeur *Amberlite IR 4 B* de préférence à l'*Allassion CS*, qui donne, d'ailleurs de bons résultats, car, comme on l'a vu, la manipulation est plus simple avec les résines anionites: elles donnent directement les cations dans l'éluant.

Les cendres de un à deux grammes de plantes sont reprises à l'acide chlorhydrique; la silice est séparée selon les techniques habituelles; la solution (volume de 20 à 25 ml) est versée au haut de la colonne et après écoulement complet sur la résine l'éluant est introduit dans la colonne; un volume de 100 ml est recueilli à la sortie; il est concentré et jaugé à 50 ml; cette solution est prête pour l'analyse photométrique. Les cations sont titrés par rapport à des étalons de Na, Ca, K, Mg, exempts de phosphore et préparés comme il a été dit. Les seules interactions dont on aura à tenir compte sont les interactions du potassium sur le calcium, le sodium et le magnésium et l'interaction du calcium sur le sodium, et, éventuellement les interactions dues au fer, à l'aluminium et au manganèse.

Cette technique reste suffisamment rapide pour être applicable à *l'analyse de routine*: on peut en effet, facilement effectuer une vingtaine de fractionnements en série; ils peuvent être terminés en moins d'une heure.

La préparation ou la régénération de la résine, lorsqu'elle laisse passer les ions phosphoriques s'effectue par lavage de la colonne avec les réactifs suivants:

1° 30 ml de soude 2 N,
2° 50 ml d'acide chlorhydrique normal,
3° quantité suffisante d'eau distillée

pour obtenir un éluat de $p_H = 6$ à 7. Dans ces conditions, la même résine peut servir à de nombreux fractionnements.

C. Résultats analytiques

Quelques résultats expérimentaux sont groupés dans les tableaux qui suivent; ils illustrent les différentes techniques étudiées et mettent en évidence les erreurs entachant les dosages. On trouvera des résultats obtenus sur solutions synthétiques complexes contenant la plupart des ions généralement présents dans les solutions de cendres, ainsi que des résultats d'analyse de cendres végétales, faites comparativement à la technique gravimétrique.

Tableau II

Dosage des cations avec correction graphique de phosphore

N°	Composition: des solutions synthétiques (μg/ml)	Valeurs trouvées (μg/ml)							
		Ca		K		Mg		Na	
		Conc.	erreur %	Conc.	erreur %	Conc.	erreur %	Conc.	erreur %
Témoin	K = 800, Ca = 300, Na = 20, Mg = 40, P = 0, Al = 15	300	0	804	+0,5	41	+2,5	21	+5
1	K = 800, Ca = 300, Na = 20, Mg = 40, P = 200, Al = 15	298	—0,66	806	+0,75	40	0	20	0
2	K = 800, Ca = 200, Na = 15, Mg = 40, P = 100, Al = 15	201	+0,5	796	—0,5	40	0	15	0
3	K = 400, Ca = 100, Na = 20, Mg = 40, P = 100, Al = 15	101	+1	403	+0,75	39,5	—1,5	19,5	—2,5
4	K = 400, Ca = 200, Na = 10, Mg = 20, P = 100, Al = 15	203	+1,5	404	+1	20	0	10	0
5	K = 600, Ca = 150, Na = 10, Mg = 30, P = 150, Al = 15	148	+1,33	603	+0,5	31	+3,3	11	+10

Le tableau II contient des résultats de solutions synthétiques photométrées directement; une correction graphique tenant compte de la concentration en phosphore est appliquée au dosage du calcium. Les solutions sont de teneurs variables: le potassium varie entre 400 et 800 μg/ml, le calcium de 100 à 300 μg/ml le magnésium de 20 à 40 μg/ml, et le sodium de 10 à 20 μg/ml. Les écarts entre les valeurs trouvées et le titre des solutions varient, pour le calcium entre $\pm 1{,}5\%$, pour le potassium entre

$\pm 1\%$, pour le magnésium entre $\pm 3{,}3\%$, et pour le sodium entre $\pm 10\%$; ces erreurs ne présentent aucun caractère systématique: l'erreur sur le calcium est due à l'appareillage et à la complexité du milieu; l'erreur sur le potassium est une erreur d'appareillage ($\pm 1\%$); l'erreur, parfois forte sur le magnésium résulte des fluctuations galvanométriques de la mesure, qu'il est difficile de réduire; enfin, l'erreur sur le sodium est souvent forte par excès ou par défaut, elle provient de la faible concentration relative de cet élément et de l'interférence du potassium.

Tableau III. Dosages comparatifs de solutions végétales
Méthode chimique — Méthode spectrophotométrique avec correction de phosphore

Echantillon	Ca %		K %		Mg %	
	chimique	spectro	chimique	spectro	chimique	spectro
I	0,567	0,560	2,88	2,55	0,18	0,19
II	0,520	0,545	1,82	2,04	0,155	0,154
III	0,292	0,300	2,11	2,18	0,07	0,09
IV	0,570	0,547	3,46	3,23	0,14	0,16
V	0,425	0,432	3,75	3,45	0,135	0,145
VI	0,490	0,497	2,86	2,70	0,120	0,13
VII	0,430	0,432	1,23	1,27	0,085	0,093
VIII	0,355	0,377	1,63	1,61	0,066	0,088

Dans le tableau III on peut comparer quelques résultats d'analyses chimiques et spectrographiques faites sur cendres végétales l'analyse spectrale étant faite directement sur la solution des cendres après séparation de la silice. La concordance des résultats est assez bonne pour le calcium où les écarts sont inférieurs à 5%; les différences sont plus fortes sur le potassium (elles atteignent 10%; on doit incriminer, pour une part importante la technique gravimétrique. Si la même remarque s'applique aux dosages de magnésium; il existe cependant une certaine erreur liée à la difficulté du dosage spectral; cette erreur peut atteindre 5 à 6%.

Les tableaux IV et V groupent des résultats d'analyses de solutions synthétiques, après fractionnement sur résines échangeurs de cations. Les séparations sont peu satisfaisantes sur résine *Dowex 50*: l'élution des cations n'est pas quantitative, du moins dans des conditions expérimentales applicables à l'analyse en série. On obtient de meilleurs résultats en fractionnant les solutions sur résine *Allassion CS*: l'erreur, inférieure à 2%, sur le dosage de calcium justifie une bonne séparation du phosphore; les résultats sont également corrects pour le potassium, le sodium et le magnésium.

Tableau IV
Dosage des cations après séparation des ions sur Dowex 50

Composition des solutions (µg/ml)	Valeurs trouvées après séparation (µg/ml)							
	Ca		K		Na		Mg	
	Conc.	erreur %	Conc.	erreur %	Conc.	erreur. %	Conc.	erreur %
K = 400, Ca = 100, Na = 20, Mg = 40, P = 0, Al = 15	85	—15	320	—20	21	—5	33	—17
K = 400, Ca = 100, Na = 20, Mg = 40, P = 100, Al = 15	88	—12	382	—4	20	0	31	—22
K = 400, Ca = 100, Na = 20, Mg = 40, P = 500, Al = 15	83	—17	292	—27	21	+5	33	—17

Tableau V. Dosage des cations après fractionnement sur résine Allassion CS

Composition des solutions (µg/ml)	Valeurs trouvées après fractionnement (µg/ml)							
	Ca		K		Na		Mg	
	Conc.	erreur %	Conc.	erreur %	Conc.	erreur %	Conc.	erreur %
Témoin P = 0, K = 400, Ca = 100, Na = 20, Mg = 40, P = 0, Al = 15	100	0	400	0	20	0	39	—2,5
Solution 1 K = 400, Ca = 100, Na = 20, Mg = 40, P = 100, Al = 15	100	0	395	—1,2	20	0	40	0
Solution 2 K = 400, Ca = 100, Na = 20, Mg = 40, P = 500, Al = 15	100	0	400	0	19	—5	39	0
Solution 3 K = 400, Ca = 200, Na = 20, Mg = 40, P = 400, Al = 15	201	+0,5	400	0	19	—5	40	0
Solution 4 K = 400, Ca = 400, Na = 20, Mg = 40, P = 400, Al = 15	408	+2,0	397	—0,8	20	0	40	0

Des résultats analytiques avec fractionnement sur résines échangeurs d'anions sont rapportés dans les tableaux VI et VII: les fractionnements sur résine *Allassion CA* ne sont pas quantitatifs, en effet, l'élution des cations n'est pas totale, même après passage d'un volume d'éluant de 200 ml, alors que l'éluat contient déjà une quantité notable de phosphore. Des meilleures séparations sont obtenues sur résine *Amberlite IR 4 B*: les erreurs sur le calcium et le potassium sont comprises entre $\pm$ 1%, sur le sodium et le magnésium, entre $\pm$ 5%; on doit attribuer ces écarts, non pas au fractionnement sur colonne, mais plutôt à la technique spectrophotométrique et à la complexité du milieu des cations; cette technique apparaît la plus satisfaisante, elle n'exige qu'un minimum de manipulations tout en conservant une précision satisfaisante.

Tableau VI
Dosage des cations après fractionnement sur Allassion CA

Composition des solutions (μg/ml)	Valeurs trouvées après fractionnement (μg/ml)							
	Ca		K		Mg		Na	
	Conc.	erreur %	Conc.	erreur %	Conc.	erreur %	Conc.	erreur %
Solution témoin K = 400, Ca = 100, Na = 20, Mg = 40, P = 0, Al = 15	100	0	402	+0,5	40,5	+1,25	20	0
Solution 2 K = 400, Ca = 100, Na = 20, Mg = 40, P = 100, Al = 15	67	—33	358	—10	40	0	20	0
Solution 3 K = 400, Ca = 100, Na = 20, Mg = 40, P = 500, Al = 15	66	—34	352	—12	39	—2,5	19	—5

Dans le tableau VIII, on trouvera quelques analyses comparées des méthodes avec correction graphique du phosphore d'une part, et avec séparation des anions sur échangeur *Amberlite IR 4 B* d'autre part; les échantillons analysés sont des feuilles de bananiers. On relève quelques écarts dans les résultats selon les deux méthodes; ces différences n'ont aucun caractère systématique; les différences dans les dosages de calcium, atteignant 4,5%, semblent devoir être imputées plus à la méthode de correction graphique qu'à la méthode de séparation sur échangeur.

Dans un travail exigeant le dosage des quatre éléments il est préférable de procéder à un fractionnement sur résine qui séparera tous les

anions pouvant gêner les dosages et en particulier les ions phosphoriques; il convient, toutefois, de souligner que le dosage de K, Na, Mg, ne nécessite pas la séparation du phosphore; ces cations peuvent donc être dosés directement sur les solutions de cendres, en tenant compte des interférences des éléments entre eux et des éléments étrangers.

Tableau VII. Dosage des cations après fractionnement sur résine Amberlite IR 4 B

Composition des solutions (μg/ml)	Valeurs trouvées après fractionnement (μg/ml)							
	Ca		K		Mg		Na	
	Conc.	erreur %	Conc.	erreur %	Conc.	erreur %	Conc.	erreur %
K = 400, Ca = 100, Na = 20, Mg = 40, P = 0, Al = 15	100	0	400	0	39	—2,5	21	+5
K = 400, Ca = 100, Na = 20, Mg = 40, P = 100, Al = 15	101	+1	398	—0,5	38	—5	20,5	+2,5
K = 400, Ca = 100, Na = 20, Mg = 40, P = 200, Al = 15	99	—1	401	+0,25	40	0	20,5	+2,5
K = 400, Ca = 400, Na = 20, Mg = 40, P = 500, Al = 15	397	—0,7	400	0	39	—2,5	19	—5
K = 300, Ca = 200, Na = 20, Mg = 20, P = 1000, Al = 15	201	+0,5	302	+0,6	20,5	+2,5	19	—5
K = 100, Ca = 100, Na = 10, Mg = 40, P = 100, Al = 15	99	—1	101	+1	39	—2,5	10	0

Tableau VIII. Dosage comparatif des cations après fractionnement sur résine IR 4 B (RES) Avec correction graphique (COR)

N° échantillon	K %			Ca %			Mg %		
	RES	COR	Δ %	RES	COR	Δ %	RES	COR	Δ %
I	2,40	2,40	0	2,16	2,19	1,4	0,48	0,48	0
II	3,38	3,36	0,6	1,08	1,04	3,7	0,30	0,31	3,3
III	2,70	2,80	3,7	1,09	1,10	0,9	0,24	0,24	0
IV	2,56	2,62	2,3	1,48	1,55	4,5	0,27	0,27	0
V	3,10	3,18	2,5	1,35	1,32	2,3	0,34	0,36	5,5

Conclusion

Comme nous l'avons fait remarquer, les techniques spectrales d'analyse en série des cations ne sont pas universellement applicables; chaque milieu particulier exige un étalonnage approprié qu'il est d'ailleurs facile d'établir à la suite d'un examen préliminaire rapide fixant l'ordre de grandeur de la concentration des cations dans l'espèce végétale à étudier; on en déduira les diverses interactions dont il faudra tenir compte. La précision de l'analyse reste fonction de la complexité du milieu et de la teneur des éléments dosés, on ne peut, à priori, lui imposer une valeur déterminée; les quelques résultats que nous avons donnés, ont été choisis pour faire apparaître les limites d'erreur rencontrée dans un grand nombre d'analyses de série faites selon les techniques décrites.

Résumé

La spectrophotométrie de flamme est appliquée à l'analyse des cendres végétales: dosage des cations, Na, Ca, K, Mg. La complexité du milieu exige que l'on tienne compte des interactions des éléments entre eux ainsi que des autres éléments présents. Les solutions d'étalonnage seront constituées par des solutions contenant les cations à des concentrations analogues aux extraits végétaux. Des graphiques d'interférences permettent de corriger ensuite les dosages. Les éléments tels que Mn, Fe, Al sont susceptibles d'interférer sur les déterminations de Na, Ca, K, Mg selon les cas; on pourra être amener à en tenir compte. L'interférence du phosphore sur le calcium en particulier, est étudiée en détail; on est conduit, soit à corriger les dosages de Ca à l'aide de graphiques de correction tenant compte de la teneur des solutions en phosphore, soit à séparer les ions phosphoriques sur échangeurs d'ions; cette technique est décrite; elle donne de bons résultats. Quelques résultats analytiques sur solutions synthétiques et sur solutions végétales sont donnés.

Zusammenfassung

Die Flammenphotometrie wurde zur analytischen Bestimmung von Na, Ca, K und Mg in Pflanzenaschen angewendet. Die komplexe Natur des Untersuchungsmaterials erfordert die Berücksichtigung der gegenseitigen Beeinflussung der angeführten wie auch des Einflusses anderer anwesender Elemente. Die Vergleichslösungen sollen die Kationen in ähnlicher Konzentration wie die Pflanzenextrakte enthalten. Mit Hilfe von Diagrammen der gegenseitigen Beeinflussung lassen sich dann die Ergebnisse korrigieren. Zu berücksichtigen ist, daß Elemente wie Mn, Fe und Al fallweise die Bestimmung von Na, Ca, K und Mg stören können. Eingehend wurde der Einfluß des Phosphations auf die Bestimmung des Ca untersucht; demnach muß man die Ca-Werte entweder mit Hilfe solcher Diagramme je nach dem Phosphatgehalt der Lösung korrigieren oder das Phosphat mit Ionenaustauschern entfernen. Ein Verfahren hierzu wird beschrieben und gibt gute Resultate. Einige, bei synthetisch hergestellten und aus pflanzlichem Material gewonnenen Lösungen erhaltene Analysenergebnisse werden mitgeteilt.

Summary

Flame spectrophotometry is applied to the analysis of vegetable ashes: determination of the cations, Na, Ca, K, Mg. The complexity of the milieu requires that account be taken of the interactions of the elements as well as of those of the other elements present. The standard solutions are constructed from solutions containing the cations at concentrations analogous to those of vegetable extracts. The interference graphs make it possible to correct the determinations subsequently. Such elements as Mn, Fe, Al are susceptible to cause interference in the determination of Na, Ca, K, Mg as the case may be; they may be taken into account. The interference of phosphorus on calcium in particular has been studied in detail. The determinations of calcium may be corrected by means of correction curves taking account of the content of phosphorus in the solution, or the phosphoric ions may be removed by means of ion exchangers. This technique is described; it gives good results. Some analytical results on synthetic solutions and on vegetable solutions are included.

Bibliographie

[1] *H. Lundegårdh*, Die quantitative Spektralanalyse der Elemente. Jena: G. Fischer. 1929 bzw. 1934.

[2] *R. Mavrodineanu* et *H. Boiteux*, L'analyse spectrale quantitative par la flamme. Paris: Masson. 1954.

[3] *A. Gouy*, Ann. chim. phys. [5] **18**, 5 (1879).

[4] *R. L. Mitchell*, The Spectrographic Analysis of Soils, Plants and Related Materials. York: Herald. 1948.

[5] *M. Pinta*, Contribution à l'étude des spectres de flamme. Paris: Thèse. 1953.

[6] *P. Guerin de Montgareuil*, Contribution à l'étude des interactions chimiques dans les flammes. Paris: Thèse. 1954.

[7] *M. Pinta*, Ann. agronom. **2**, 189 (1955).

[8] *R. L. Mitchell* et *I. M. Robertson*, J. Soc. Chem. Ind. **55**, 269 (1936).

[9] *J. Kohnlein* et *K. E. Lucke*, Z. Pflanzenernähr., Düng. Bodenkunde **57**, 114 (1952).

[10] *G. Demortier* et *G. Van Hoech*, Bull. inst. agronom. stat. rech. Gembloux **20**, 57 (1952).

[11] *P. S. Chen*, et *T. Y. Toribara*, Analyt. Chemistry **25**, 1642 (1953).

[12] *T. R. Williams* et *R. R. T. Morgan*, Chem. and Ind. **37**, 970 (1953).

[13] *H. M. Bauserman* et *R. R. Cerney*, Analyt. Chemistry **25**, 1821 (1953).

[14] *H. Kick*, Z. Pflanzenernähr., Düng. Bodenkunde **67**, 53 (1954).

[15] *E. J. Heinen*, J. Assoc. Off. Agric. Chemists **38**, 391 (1955).

[16] *W. J. Mathis*, J. Assoc. Off. Agric. Chemists **38**, 387 (1955).

[17] *K. Shoji* et *N. Shigeru*, Proc. Amer. Soc. Horticult. Sci. **64**, 299 (1954).

[18] *M. A. Macheboeuf* et *J. L. Delsal*, Bull, soc. chim. biol. **25**, 116 (1943).

[19] *W. J. L. Sutton*, J. Dairy Sci. **36**, 1248 (1953).

[20] *D. C. MacKay* et *W. A. Delong*, Canad. J. Agric. Sci. **34**, 451 (1954).

[21] *C. W. Gehrke*, *H. E. Affsprung* et *E. L. Wood*, J. Agric. Food Chem. **3**, 48 (1955).

[22] *W. M. Ashton* et *J. H. Williams*, J. Sci. Food Agric. **6**, 311 (1955).

[23] *O. Samuelson*, Ion Exchangers in Analytical Chemistry. New York: Wiley. 1953.

[24] *M. Lederer*, Progrès récents de la chromatographie, 2e partie. Chimie minérale. Paris: Hermann & Cie. 1952.

[25] *R. Eeckelaers*, Les échangeurs d'ions. Paris: Eyrolles. 1955.

Istituto di Chimica Farmaceutica della Università di Modena

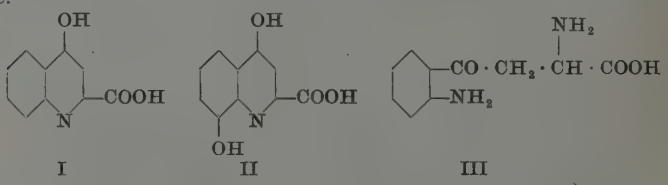
Entwicklung analytischer Methoden für einige biologische Abbauprodukte des Tryptophans*

Von

Dino Coppini

(Eingelangt am 25. Mai 1956)

L. Musajo[1] entdeckte im Jahre 1934 im Urin von Ratten, die mit Fibrin ernährt wurden, die Xanthurensäure als neues Stoffwechselprodukt des Tryptophans. Es würde zu weit führen, auf alle seither erschienenen Arbeiten einzugehen, die sich im Bereich der Biologie und der Physiopathologie des Menschen auch nur mit den wichtigeren Stoffwechselprodukten des Tryptophans befaßt haben. Im folgenden sollen nur analytische Methoden erörtert werden, die mit den Hauptprodukten des biologischen Tryptophanabbaus zu tun haben, also folgende Stoffe betreffen: Kynurensäure (I), Xanthurensäure (II), Kynurenin (III), 3-Hydroxykynurenin (IV), Anthranilsäure (V) und 3-Hydroxyanthranilsäure.



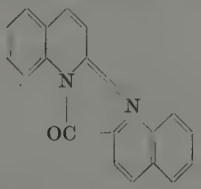
* Vorgetragen im Rahmen des Symposiums für angewandte Mikrochemie in Graz, 8. bis 11. April 1956.

Die Kynurensäure wurde von *Liebig*[2] 1853 isoliert, 1921 von *Späth*[3] charakterisiert und später genau untersucht; erst 1951 entwickelten *Musajo* und *Coppini*[4] eine Mikrobestimmungsmethode für diese Säure.

Die Entdeckung der Xanthurensäure war bekanntlich durch die smaragdgrüne Färbung möglich, die sich im Harn fibrinernährter Ratten zeigt, wenn diese in Eisenkäfigen gehalten werden. Auf dieser Färbung beruhen fast alle quantitativen Bestimmungsmethoden dieses Produktes, wobei es (unter verschiedenen Bedingungen) mit Eisen(III)- oder Eisen(II)-salzen zur Reaktion gebracht wird. Zur Bestimmung in der Größenordnung weniger Mikrogramm hat sich *Musajo* oft des Eisen(II)-sulfates bedient, mit dem eine sehr empfindliche Reaktion eintritt (1 : 200000), während *Miller* und *Baumann*[5] Eisen(III)-chlorid in äthanolischer Lösung benützten und ein Verfahren zur Extraktion aus Harn sowie eine quantitative Bestimmung auf kolorimetrischem Wege beschrieben. Entsprechende Verfahren wurden von *Porter*, *Clark* und *Silber*[6] ausgearbeitet. Dennoch wurde das Problem nicht gelöst, vielmehr verblieb immer die Schwierigkeit, die Kynurensäure nachzuweisen und zu bestimmen. Außerdem gestaltete sich die Trennung dieser beiden Hydroxychinolincarbonsäuren nicht leicht.

Das von *Musajo* und *Coppini*[4] ausgearbeitete Verfahren ist noch bei Anwesenheit von 10 μg einer oder beider Säuren im ml anwendbar. Die Xanthurensäure wird mit Hilfe der Eisen(II)-sulfatreaktion bei $p_H = 8$ bestimmt. Die Grünfärbung, die man mit Eisen(II)-salz in hydrogencarbonatalkalischer Lösung erhält, ist für quantitative Zwecke wegen ihrer unzweifelhaft größeren Spezifität gegenüber jenen Reaktionen vorzuziehen, die man mit Eisen(III)-chlorid in äthanolischer oder in Äthanol-Isoamylalkohol-Lösung oder auch mit Diazobenzolsulfonsäure erhält. Die Gegenwart von Kynurensäure, die mit Eisen(II)- oder Eisen(III)-salzen keine Färbung gibt, stört nicht.

Um eine Farbreaktion für Kynurensäure zu finden, zogen wir jene roten, lichtempfindlichen Substanzen in Betracht, die *Besthorn* und *Ibele*[7] „eine neue Klasse von Farbstoffen der Chinolin-α-carbonsäuren" nannten und denen sie eine Konstitution folgender Art zuschrieben:



Durch Vermischen der Kynurensäure mit Phosphorpentachlorid und Phosphoroxychlorid und darauffolgende Behandlung mit Chinolin

gelangt man zu einem Chlorderivat vom Typ der *Besthorn*schen Farbstoffe. Diese Reaktion ergibt eine genügend lichtbeständige, rotviolette Färbung und verläuft quantitativ. Aber deren Anwendung auf biologische Flüssigkeiten ist nicht leicht, da sich der Farbstoff unter Ausschluß von Xanthurensäure aus reiner Kynurensäure bilden muß. Man darf nicht übersehen, daß auch die Xanthurensäure als Chinolin-α-carbonsäure langsam mit Phosphoroxychlorid zu 4-Chlor-8-hydroxychinolin-2-carbonsäure reagiert und Störungen daher nicht zu vermeiden sind. Diese Behinderung wurde jedoch unter Ausnützung des unterschiedlichen Verhaltens der beiden Hydroxychinolincarbonsäuren gegenüber Permanganat überwunden. Während die Kynurensäure in alkalischem Milieu von Permanganat nur langsam zu Oxalylanthranilsäure oxydiert wird, erfolgt die Oxydation der Xanthurensäure sehr rasch und tiefgreifend, ohne daß sich charakteristische Substanzen bilden. Beschränkt man die Einwirkung des Oxydationsmittels auf wenige Minuten, so wird die Xanthurensäure sogleich zerstört, während Kynurensäure unangegriffen bleibt. Auf dieser Grundlage konnten wir für unsere Methode die folgende Vorgangsweise ausarbeiten:

1. Extraktion beider Säuren mit Isoamylalkohol und deren Überführung in Natriumhydrogencarbonatlösung;
2. Farbreaktion der Xanthurensäure mit Eisen(II)-salz (Grünfärbung);
3. Zerstörung der Xanthurensäure (mit Permanganat);
4. Extraktion der Kynurensäure mit Isoamylalkohol;
5. Reaktion der Kynurensäure mit Phosphorpentachlorid, Phosphoroxychlorid und Chinolin unter Rotviolettfärbung.

Dieses Verfahren ist umständlich und seine Resultate sind im allgemeinen etwas zu niedrig. Es war daher notwendig, es vor allem für die Anwendung bei der Harnanalyse zu vereinfachen. Nach der von mir ausgearbeiteten Methode[8] bestimmt man die Xanthurensäure mittels ihrer grünen Farbreaktion mit Eisen(II)-salzen direkt im Harn, worin auch die Permanganatoxydation durchgeführt wird. Anschließend wird die Kynurensäure nach der oben angeführten Methode bestimmt. Da der Nachweis und die Bestimmung der beiden Hydroxychinolincarbonsäuren im Blut für Untersuchungen auf dem Gebiet des Tryptophanstoffwechsels von gewissem Interesse ist, habe ich die Anwendung dieses Verfahrens für die Blutuntersuchung studiert[9]. Die Extraktion der beiden genannten Stoffwechselprodukte aus dem Serum läßt sich bei dessen gleichzeitiger Enteiweißung mit Hilfe einer Mischung gleicher Volumina absoluten Alkohols und trockenen Acetons durchführen. Nach Abfiltrieren des Eiweißniederschlages und Abdestillieren des Lösungsmittels wird der Rückstand in Hydrogencarbonatlösung aufgenommen und weiter wie angegeben analysiert.

Sind auch die Methoden der Kynurensäure- und Xanthurensäurebestimmung für Untersuchungen des Tryptophanstoffwechsels bei Tier und Mensch von allgemeiner Bedeutung, so ist jene der Kynureninbestimmung nicht minder wichtig. Kynurenin (o-Aminobenzoylalanin) wurde 1925 von *Matsuoka* und *Yoshimatsu*[10] aus Kaninchenharn isoliert und 1940 seine Strukturformel von *Butenandt*[11] aufgeklärt. 1949 konnte *Butenandt* auch das 3-Hydroxykynurenin aus frischen Larven von Calliphora Erythrocephala isolieren und synthetisieren[12]. Fast gleichzeitig gelang die Synthese dieser Substanz *Musajo*, *Spada* und *Casini*[13] auf anderem Wege. Das Kynurenin, eine weiße, kristalline Substanz, kann mit Hilfe der Farbreaktion von *Kotake* und *Shichiri*[14] nachgewiesen werden, indem man es einige Minuten mit Natriumhydrogencarbonatlösung und Phenylhydrazinchlorhydrat erhitzt und dann konz. Schwefelsäure hinzufügt. Man erhält hierbei eine blaue Färbung. Für quantitative Zwecke haben *Otani*, *Nishino* und *Imai*[15] eine andere Methode vorgeschlagen: Man behandelt eine Lösung weniger Mikrogramm Kynurenin mit einer salzsauren Lösung von p-Dimethylaminobenzaldehyd und 3%igem Wasserstoffperoxyd und hält die Mischung für 15 Stunden bei 37° C. Die rotviolette Flüssigkeit wird einige Male mit n-Butanol gewaschen, um den Reagensüberschuß und die Reaktionsprodukte mit anderen Substanzen zu entfernen, und dann spektrophotometrisch gemessen. *Ginoulhiac*[16] hat die Spezifität der kolorimetrischen Bestimmung des Kynurenins in Reihenversuchen festgestellt und deren Anwendbarkeit für biologische Lösungen auch bei Gegenwart anderer Abbauprodukte bewiesen.

Eine bis zu 0,8 μg/ml geeignete, neuere Methode wurde 1950 von *Ito* und *Motizuki*[17] angegeben: fügt man zu diazotiertem Kynurenin eine Lösung von α-Naphthol, so entsteht eine sehr stabile und für die Mikrobestimmung des Kynurenins anwendbare rote Färbung. In einer späteren Arbeit konnte *Mochizuki*[18] mit Hilfe des Oxalates des 2-Diäthylaminoäthyl-1-naphthylamins als Kupplungsreagens eine Empfindlichkeit von 0,5 μg/ml erreichen. Auch bei diesen Methoden werden störende Substanzen durch Extraktion mit Butanol oder einem anderen organischen Lösungsmittel entfernt.

Für das 3-Hydroxykynurenin wurden bis jetzt noch keine speziellen Bestimmungsmethoden ausgearbeitet. Bekanntlich gibt es die Ninhydrinreaktion und löst sich in einem Tropfen wäßriger Eisen(III)-chloridlösung mit rotvioletter Farbe, die beim Verdünnen in Gelbbraun umschlägt. Mit Sulfanilsäure reagiert das Diazoniumsalz des 3-Hydroxykynurenins in alkalischem Milieu unter Rotfärbung. Wie das Kynurenin, gibt auch seine 3-Hydroxyverbindung die Farbreaktionen von *Kotake* und *Shichiri* sowie von *Otani*, *Nishino* und *Imai*.

Die Bestimmung des 3-Hydroxykynurenins in der Größenordnung einiger Milligramm läßt sich nach dessen Umwandlung in Xanthurensäure

durch Kochen mit Barytwasser mit Hilfe der Eisen(II)-sulfatreaktion durchführen, wie *Musajo*, *Chiancone* und *Coppini*[19] experimentell festgestellt haben.

In vivo bildet sich aus Tryptophan über das Kynurenin durch Einwirkung der Kynureninase[20] Anthranilsäure, während 3-Hydroxyanthranilsäure aus 3-Hydroxykynurenin entsteht und ein Zwischenprodukt der Biosynthese der Nikotinsäure darstellt. Diese beiden Anthranilsäuren zeigen zahlreiche gemeinsame Reaktionen, die sowohl zu ihrer Identifizierung (Fluoreszenz, Ninhydrin) als auch zu ihrer quantitativen Bestimmung dienen können (Reaktion nach *Ehrlich*, *Pauly* und *Ekman*). Zur Anthranilsäurebestimmung im Harn benützten *Ugami* und *Nagata*[21] deren Umwandlung in Brenzcatechin durch Einwirkung salpetriger Säure. Nach Extraktion des o-Diphenols mit Äther, Eindampfen des Extraktes und Aufnahme des Rückstandes in Wasser, wird die bekannte Reaktion mit Eisen(III)-chlorid durchgeführt und die violette Farbe photometrisch ausgewertet.

Gegenüber den bisher beschriebenen Methoden hat die Einführung chromatographischer Methoden die Lage gänzlich geändert. Mit deren Hilfe sind nun Untersuchungen durchführbar, die früher unmöglich waren.

Die Mehrzahl solcher Untersuchungen (*Tabone*[22], *Benassi*[23], *Sensi*[24], *Cornphorth*[25], *Leone* und *Guerritore*[26] usw.) wurden papierchromatographisch für qualitative Zwecke durchgeführt. Der Nachweis der Chromatogrammflecken erfolgte entweder durch ihre charakteristische Fluoreszenz oder mit Hilfe verschiedener Farbreaktionen. Bei Außerachtlassung veresterter Derivate (Acetylkynurenin, N-Acetylanthranilsäure, Anthranilsäureglucuronid) konnte ich mit Hilfe der Papierchromatographie die Trennung und quantitative Bestimmung des Kynurenins, des 3-Hydroxykynurenins, der Anthranilsäure, der 3-Hydroxyanthranilsäure, der Kynurensäure und der Xanthurensäure durchführen.

Mit der eindimensionalen Papierchromatographie kann man mit Hilfe des Lösungsmittelgemisches nach *Partridge*[28] die Trennung des Kynurenins und der Anthranilsäuren durchführen, während sich die Flecken der Kynuren- und Xanthurensäure überlappen und mit Wasser neuerdings chromatographiert werden müssen, um auch diese beiden Substanzen trennen zu können, wie bereits *Synge* und *Tiselius*[29] gezeigt haben.

Man zeichnet die einzelnen Flecken im ultravioletten Licht an, schneidet die des Kynurenins und der Anthranilsäuren aus, eluiert sie und kolorimetriert die erhaltenen Lösungen. Der der Kynuren- und Xanthurensäure entsprechende Fleck wird dagegen mit einem Papierstreifen von der gesamten Breite des Chromatogrammbogens ausgeschnitten und mit Wasser neuerlich chromatographiert. Hierdurch werden Verluste vermieden, wie sie durch Übertragen auf einen neuen Papierstreifen nach dem Objektträgerverfahren auftreten können.

Tabelle 1

Substanz	R_f 22° BuOH-AeOH-H_2O (4:1:5)	R_f 22° H_2O	Fluoreszenz im Woodschen Licht	Eluiert mit	Farbreaktion mit	Erhaltene Färbung
3-Hydroxy-kynurenin	0,31	—	gelb-grün	Wasser	diaz. Sulfanilsäure	gelb (bei den angew. Mengen)
Kynurenin	0,40	—	hellblau	p-Dimethylamino-benzaldehyd	p-Dimethylamino-benzaldehyd	gelb
Xanthurensäure	0,54	0,46	blau-violett	Wasser	diaz. Sulfanilsäure	rot
Kynurensäure	0,55	0,64	grün-blau	Alkohol 95%	—	farblos
3-Hydroxy-anthranilsäure	0,89	—	himmelblau	Wasser	diaz. Sulfanilsäure	gelb (bei den angew. Mengen)
Anthranilsäure	0,93	—	blau-violett	p-Dimethylamino-benzaldehyd	p-Dimethylamino-benzaldehyd	gelb

3-Hydroxykynurenin, 3-Hydroxyanthranilsäure und Xanthurensäure werden nach Elution mit Wasser mittels der Diazoreaktion nach *Pauly* in Gegenwart von Pyridin bestimmt. Für das Kynurenin und die Anthranilsäure habe ich sowohl für die Eluierung als auch für die Farbreaktion eine essigsaure Lösung von p-Dimethylaminobenzaldehyd nach *Harthon* und *Mayer*[30] benützt, während die Kynurensäure in alkoholischer Lösung durch Messung der Ultraviolettabsorption nach *Furst* und *Olsen*[31] bestimmt wurde. In der Tabelle 1 sind einige Ergebnisse meiner Untersuchungen angeführt. Wie die R_f-Werte zeigen, konnte mit diesem Verfahren eine gute Trennung aller Stoffwechselprodukte erzielt werden. Die Tabelle 2 zeigt, daß auch in quantitativer Hinsicht befriedigende Ergebnisse zu erhalten waren. Lassen sich diese Methoden auch auf biologische Flüssigkeiten anwenden, worüber unsere derzeit laufenden Versuche Aufschluß geben sollen, so wird es möglich sein, den Abbau des Tryptophans auf verschiedenen Gebieten mit großer Genauigkeit zu verfolgen.

Um unser Interesse an diesen Untersuchungen verständlich zu machen, sei

Tabelle 2

3-Hydroxyanthranilsäure			3-Hydroxykynurenin			Xanthurensäure		
gegeben µg	$E^{1\,cm}_{450}$	gefunden µg	gegeben µg	$E^{1\,cm}_{450}$	gefunden µg	gegeben µg	$E^{1\,cm}_{510}$	gefunden µg
2,08	0,022	2,12	2,06	0,030	1,95	2,21	0,059	2,21
2,91	0,032	2,89	2,55	0,037	2,41	3,19	0,086	3,23
4,66	0,050	4,83	4,95	0,075	4,89	5,33	0,139	5,22
5,33	0,055	5,31	5,91	0,089	5,81	6,38	0,172	6,46
7,28	0,074	7,14	7,21	0,110	7,18	7,74	0,201	7,55
8,78	0,091	8,79	8,27	0,126	8,22	8,51	0,230	8,64
5,66	0,100	9,66	9,45	0,145	9,46	9,95	0,265	9,96
10,13	0,108	10,23	10,05	0,153	9,99	10,64	0,281	10,56

Anthranilsäure			Kynurenin			Kynurensäure		
gegeben µg	$E^{1\,cm}_{450}$	gefunden µg	gegeben µg	$E^{1\,cm}_{450}$	gefunden µg	gegeben µg	$E^{1\,cm}_{243}$	gefunden µg
2,12	0,085	2,09	1,59	0,013	1,62	2,52	0,074	2,44
3,18	0,129	3,18	2,48	0,020	2,49	3,56	0,107	3,54
5,00	0,200	4,94	3,97	0,032	3,99	3,63	0,110	3,64
5,31	0,210	5,18	4,12	0,033	4,12	6,20	0,190	6,28
7,13	0,288	7,11	5,67	0,045	5,62	7,24	0,220	7,28
7,43	0,298	7,36	7,95	0,063	7,86	8,07	0,245	8,10
9,55	0,392	9,68	9,37	0,075	9,36	9,09	0,277	9,16
10,00	0,402	9,92	10,13	0,081	10,11	11,66	0,350	11,58

kurz auf deren Nutzanwendung hingewiesen. Haben sie doch ein über die biologische Forschung hinausgehendes Anwendungsgebiet. 1950 schlug *Chiancone*[32] den Gebrauch eines „Xanthurenindex" vor, um den Pyridoxinmangel beim Menschen zu definieren. Dieser gibt die innerhalb 24 Stunden nach Verabreichung von Tryptophan ausgeschiedene Menge Xanthurensäure pro 100 g Tryptophan an.

Verschiedene italienische Kliniken haben diesem Vorschlag entsprochen und neuerdings hoben auch *Vilter* und *Cincinnati*[33] die Wichtigkeit der analytischen Bestimmung der Xanthurensäure* im Harn von Patienten hervor, um den Mangel an Vitamin B_6 bei verschiedenen pathologischen Zuständen verfolgen zu können.

1951 hat *Vandelli*[34] die Ausscheidung von Xanthurensäure während der Schwangerschaft nach der Methode von *Musajo* und *Coppini* bestimmt und dabei festgestellt, daß schwangere Frauen in den ersten Stunden nach Einnahme von Tryptophan eine bedeutend größere Menge Xanthurensäure ausscheiden als nicht gravide Frauen. Behandlung mit hohen Dosen von Vitamin B_6 reduziert oder verhindert bekanntlich die Ausscheidung der Säure. Untersuchungen des gleichen Problems wurden später in Amerika von *Sprince* und Mitarbeitern[35] sowie von *Wachstein* und *Gudaitis*[36] mit analogen Ergebnissen veröffentlicht.

In zahlreichen Untersuchungen habe ich mit *Camurri*[37] die Ausscheidung der Kynurensäure quantitativ verfolgt und die Ausscheidung beider Hydroxychinolincarbonsäuren im Harn normaler und schwangerer Frauen nach Einnahme per os von 100 mg Tryptophan pro kg Körpergewicht geprüft. Die erhaltenen Daten erlaubten den Schluß, daß die Ausscheidung der Kynurensäure im Harn normaler Frauen um Werte von 1% des eingenommenen Tryptophans schwankt, während die Xanthurensäurewerte niedriger lagen oder mit den angewandten Methoden unmeßbar waren. Im Gegensatz dazu wird die Kynurensäureausscheidung bei schwangeren Frauen um das Zwei- bis Dreifache, die Xanthurensäure in weit stärkerem Maß erhöht, wobei während der einzelnen Schwangerschaftsstadien Änderungen für beide Säuren wahrscheinlich sind.

Auch auf dem Gebiet der Humanpathologie ist die Anwendung dieser Methoden von bemerkenswertem Interesse. *Musajo*, *Spada* und *Coppini*[38] isolierten 1951 aus dem Harn eines Lungentuberkulosen nach Verabreichung von Tryptophan per os 3-Hydroxyanthranilsäure. Auf papierchromatographischem Wege ist festzustellen, daß der Harn gesunder Menschen im allgemeinen nur sehr kleine Mengen dieser Säure, der von Lungentuberkulosen aber größere Mengen enthält.

Überdies haben *Altmann* und *Miller*[39] hervorgehoben, daß eine Verabreichung von Tryptophan per os bei hypoplastischer Anämie zu einer

* Nach vorheriger Einnahme von Tryptophan.

Vermehrung der Anthranilsäure und anderer Tryptophanstoffwechselzwischenprodukte im Harn führt. *Makino* und Mitarbeiter[40] identifizierten im Harn eines Falles von Tuberkulose mit positiver Diazoreaktion Kynurenin, 3-Hydroxykynurenin und andere Abbauprodukte auf papierchromatographischem Wege mit dem Lösungsmittelgemisch nach *Partridge*. Auf dem gleichen Wege stellten *Dalgliesh* und *Tekman*[41] im Harn einiger Fieberkranker 3-Hydroxykynurenin fest. *Musajo*, *Benassi* und *Parpajola*[42] analysierten über 300 Harnproben und konnten zeigen, daß bei Leukämie, *Hodgkin*scher Krankheit und anderen beträchtliche Mengen Kynurenin und 3-Hydroxykynurenin ausgeschieden werden, wobei diese Substanzen in vier Fällen aus dem Harn isoliert werden konnten.

Es scheint daher, daß die besprochenen analytischen Methoden in naher Zukunft nicht nur in biologischen Laboratorien, sondern auch am Krankenbett nützliche Dienste leisten werden.

Zusammenfassung

Es wird über Methoden für den Nachweis und die Bestimmung kleiner Mengen verschiedener Abbauprodukte des Tryptophans — auch in biologischen Flüssigkeiten —, die von zahlreichen Autoren ausgearbeitet wurden, berichtet. Hierbei handelt es sich um Kynurenin, 3-Hydroxykynurenin, Anthranilsäure und 3-Hydroxyanthranilsäure, Kynuren- und Xanthurensäure. Um das Interesse an jenen Forschungen verständlich zu machen, wird kurz hervorgehoben, daß sich die Anwendung dieser analytischen Methoden nicht auf die biologische Forschung beschränkt, sondern sich auf die Physiopathologie des Menschen ausdehnen läßt.

Summary

A report is given of methods for detecting and determining slight amounts of various degradation products of tryptophan — even in biological fluids, which were developed by various workers. Kynurenin, 3-hydroxykynurenin, anthranilic acid and 3-hydroxyanthranilic acid, kynurenic- and xanthurenic acid are included. To clarify the interest in such studies, it is briefly stressed that the application of these analytical methods is not restricted to biological studies but they can be extended to human physio-pathology.

Résumé

Communication sur les méthodes d'identification et de dosage de faibles quantités de différents produits de dégradation du tryptophane, qui ont été les objets des travaux de nombreux auteurs. Il s'agit de la kynurénine, de la 3-hydroxykynurénine, de l'acide anthranilique et de l'acide 3-hydroxyanthranilique, des acides kynurénique et xanthurénique. L'auteur indique brièvement l'intérêt de ces méthodes analytiques dont l'emploi n'est pas limité aux recherches biologiques mais peut être étendu aux recherches sur la physiopathologie de l'homme.

Riassunto

Vengono riportati i metodi analitici elaborati da numerosi AA. per la ricerca e determinazione, anche in liquidi biologici, di piccole quantità di alcuni prodotti di degradazione del triptofano: chinurenina, 3-ossichinurenina, acidi antranilico e 3-ossiantranilico, chinurenico e xanturenico. Per chiarire l'interesse di queste ricerche è stato anche accennato, sia pure brevemente, alla utilità che tali metodi analitici presentano, avendo un campo di applicazione che non si limita alla sola indagine biologica, ma che si va sempre più estendendo anche a quello delle fisiopatologia umana.

Literatur

[1] *L. Musajo*, Akten des IX. Kongresses für reine und angewandte Chemie in Madrid **5**, 135 (1934); Gazz. chim. ital. **67**, 165 (1937); s. auch Boll. accad. Pugliese scienze **4**, 1 (1930).
[2] *J. v. Liebig*, Ann. Chem. **86**, 125 (1853).
[3] *E. Späth*, Mh. Chem. **42**, 93 (1921).
[4] *L. Musajo* und *D. Coppini*, Exper. **7**, 20 (1951).
[5] *E. C. Miller* und *C. A. Baumann*, J. Biol. Chem. **157**, 553 (1945).
[6] *C. C. Porter*, *J. Clark* und *R. H. Silber*, J. Biol. Chem. **167**, 573 (1947).
[7] *E. Besthorn* und *J. Ibele*, Ber. dtsch. chem. Ges. **37**, 1236 (1904).
[8] *D. Coppini*, Il Farmaco **6**, 467 (1951).
[9] *D. Coppini*, Il Farmaco **6**, 463 (1951).
[10] *Z. Matsuoka* und *N. Yoshimatsu*, Z. physiol. Chem. **143**, 206 (1925).
[11] *A. Butenandt*, *W. Weidel* und *W. v. Derjugin*, Naturwiss. **30**, 51 (1952).
[12] *A. Butenandt*, *W. Weidel* und *H. Schlossberger*, Z. Naturforschung **46**, 242 (1949).
[13] *L. Musajo*, *A. Spada* und *E. Casini*, Gazz. chim. ital. **80**, 171 (1950).
[14] *Y. Kotake* und *G. Shichiri*, Z. physiol. Chem. **195**, 158 (1931).
[15] *S. Otani*, *N. Nishino* und *K. Imai*, Z. physiol. Chem. **270**, 60 (1941).
[16] *E. Ginoulhiac*, Exper. **7**, 390 (1951).
[17] *N. Ito* und *K. Motizuki*, J. Nara Med. Assoc. **1**, 15 (1950); zitiert nach Chem. Abstr. **47**, 675f (1953).
[18] *K. Mochizuki*, J. Nara Med. Assoc. **4**, 17 (1953); zitiert nach Chem. Abstr. **47**, 6487d (1953).
[19] *L. Musajo*, *F. M. Chiancone* und *D. Coppini*, Science **113**, 125 (1951).
[20] *O. Wiss* und *F. Hatz*, Helv. Chim. Acta **32**, 532 (1949); *O. Wiss*, Helv. Chim. Acta **32**, 1694 (1949).
[21] *S. Ugami* und *S. Nagata*, Igaku to Seibutsugaku (Med. and Biol.) **10**, 54 (1947); zitiert nach Chem. Abstr. **47**, 1219a (1953).
[22] *J. Tabone*, *D. Robert* und *J. Tröstler*, Bull. soc. chim. biol. **30**, 547 (1948).
[23] *C. A. Benassi*, Boll. soc. Ital. biol. sper. **27**, 420 (1951).
[24] *P. Sensi*, Acta Vitaminol. **5**, 105 (1951).
[25] *J. W. Cornphorth*, *C. E. Dalgliesh* und *A. Neuberger*, Biochemic. J. **48**, 598 (1951).
[26] *E. Leone* und *D. Guerritore*, Boll. soc. Ital. biol. sper. **26**, 608 (1950).
[27] *D. Coppini*, Il Farmaco, Ed. Sc. im Druck.
[28] *S. M. Partridge*, Nature **158**, 270 (1946).
[29] *R. L. M. Synge* und *A. Tiselius*, Acta Chem. Scand. **3**, 231 (1949).
[30] *J. G. L. Harthen* und *R. W. V. Mayer*, Farm. Rewy **53**, 507 (1954).
[31] *A. Furst* und *C. J. Olsen*, J. Org. Chem. **16**, 412 (1951).
[32] *F. M. Chiancone*, Acta Vitaminol. **4**, 193 (1950).

[33] *R. W. Vilter* und *M. D. Cincinnati*, J. Amer. Med. Assoc. **159**, 1210 (1955).

[34] *I. Vandelli*, Acta Vitaminol. **5**, 55 (1951).

[35] *H. Sprince, R. S. Lowy, C. E. Folsame* und *I. C. Behrman*, Amer. J. Obst. Gyn. **62**, 84 (1951).

[36] *M. Wachstein* und *A. Gudaitis*, J. Lab. Clin. Med. **40**, 550 (1952).

[37] *D. Coppini* und *M. Camurri*, Giorn. biochim. **3**, 271 (1954).

[38] *L. Musajo, A. Spada* und *D. Coppini*, J. Biol. Chem. **196**, 185 (1952); s. auch Atti soc. nat. mat. Modena **82**, 1 (1951).

[39] *K. I. Altman* und *G. Miller*, Nature **172**, 868 (1953).

[40] *K. Makino, K. Satch, T. Fujiki* und *K. Kawaguchi*, Nature **170**, 977 (1952); s. auch *K. Makino* und *H. Takahashi*, J. Biochem. (Tokyo) **42**, 1 (1955).

[41] *C. E. Dalgliesh* und *S. Tekman*, Biochemic. J. **54**, XIV (1953); **56**, 458 (1954).

[42] *L. Musajo, C. A. Benassi* und *A. Parpajola*, Nature **175**, 855 (1955); s. auch *L. Musajo*, Bull. soc. chim. biol. **35**, 711 (1953).

Aus dem II. Chemischen Laboratorium der Universität Wien

Eine direkte mikrogravimetrische Fluorbestimmung mit Triphenylzinnchlorid

(Zweiphasenfällung)

Von

H. Ballczo und **H. Schiffner**

Mit 1 Abbildung

(Eingelangt am 25. Juni 1956)

Wie erst vor kurzem berichtet[1], eignet sich das Triphenylzinnchlorid ausgezeichnet zur gravimetrischen Bestimmung größerer Fluormengen (1 bis 50 mg). Die durch die Schwerlöslichkeit des Triphenylzinnchlorids in Wasser bedingte Schwierigkeit wurde durch die sog. „Zweiphasenfällung" wirksam umgangen. Das in Wasser unlösliche Triphenylzinnchlorid wurde in einer zweiten organischen Phase gelöst und durch gutes Rühren oder Schütteln mit dem im Wasser gelösten Fluorion zur Reaktion gebracht. Dabei ergibt sich noch der Vorteil, daß störende Begleitionen, wie das Phosphat- und das Borat-Ion, mit dem Reagens in der organischen Phase leicht lösliche Verbindungen ergeben. Der mit dem Fluorion gebildete Niederschlag zeigt in Wasser eine so geringe Fluorionenrestkonzentration von nur 0,2 μg Fluorion je Milliliter, daß es nicht unmöglich schien, diese Methode auch für mikroanalytische Zwecke brauchbar zu machen.

Daher wurde versucht, die im Makromaßstab ausgearbeitete Methode in den Mikrobereich zu übertragen. Zur Fällung und Wägung werden zweckmäßig Jenaer Mikrofilterbecher mit Glasverschlüssen, wie sie schon früher anläßlich der Auswägung hygroskopischer Niederschläge gebraucht wurden[2], verwendet, um so einen Verlust an Chloroform zu vermeiden. Da die Zweiphasenfällung einige Zeit in Anspruch nimmt und unter Rührung durchgeführt werden muß, kam hierfür nur eine magnetische Rührung in Frage. Als Rührkörper dienten kleine, in Glasröhrchen eingeschmolzene Dauermagnete, die ständig im Filterbecher verblieben und auch mitgewogen wurden.

Zur Feststellung der geeigneten Rührzeit wurde eine Versuchsreihe von Fällungen mit verschieden langer Dauer durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 wiedergegeben.

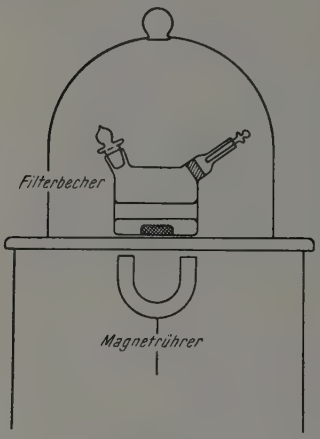


Abb. 1

Die Fluormenge betrug jeweils 150 μg. Da dies jedoch die höchste, für Mikrobestimmungen noch zweckmäßige Fluormenge ist und die Rührzeit mit der Fluormenge abnimmt, ergibt sich daraus, daß eine Rührzeit von 30 Minuten für alle Fälle

Tabelle 1. Ermittlung der Rührzeit für die mikrogravimetrische Fluorbestimmung mit Triphenylzinnchlorid

Min. Rührzeit	μg F^- vorgelegt	μg F^- gefunden
10	150,0	120,2
15	150,0	134,7
20	150,0	147,8
30	150,0	151,2
60	150,0	151,9

ausreichend ist. Die zur Fällung angewandten Volumina der Lösungen haben hier geringere Bedeutung. Sowohl für die wäßrige als auch für die organische Phase erwies sich ein Volumen von rund 2 ml als geeignet. Die Chloroformlösung wurde auch hier wieder mit Triphenylzinnfluorid gesättigt und enthielt stets die mindestens zweieinhalbfache

Tabelle 2. Die mikrogravimetrische Bestimmung von Fluoriden in reinen Fluorid-Testlösungen mittels Triphenylzinnchlorid*

μg F^- vorgelegt	μg F^- gefunden	μg Auswaage	Fehler in Relativ-%
150,0	151,2	2934	+ 0,8
150,0	150,0	2911	± 0,0
100,0	99,4	1929	— 0,6
100,0	100,7	1955	+ 0,7
75,0	76,1	1476	+ 1,5
75,0	73,6	1428	— 1,9
50,0	50,8	986	+ 1,6
50,0	50,3	976	+ 0,6
10,0	9,4	182	— 6,0
10,0	10,9	212	+ 9,0

* Molekulargewicht: $C_{18}H_{15}SnF = 368{,}82$.
Fluorgehalt: 5,1515%.
Faktor: $f = 0{,}051515$, $\log f = 0{,}71194 - 2$.

stöchiometrische Menge des zu fällenden Fluorions an Triphenylzinnchlorid. Eine Reihe von Analysenwerten, die mit reinen Fluoridlösungen bekannter Konzentration durchgeführt wurden, ist in Tabelle 2 wiedergegeben.

Die erfaßbare Menge an Fluorid liegt zwischen 10 und 150 μg Fluor. Größere Mengen sind nach dieser Methode unbequem zu handhaben und werden besser nach der Makromethode bestimmt. Kleinere Fluormengen sind hingegen nicht mehr mit der entsprechenden Genauigkeit zu erfassen, da sich hierbei doch schon die Löslichkeit des Niederschlages bemerkbar macht und der Wägefehler gegenüber der Auswaage bereits ins Gewicht fällt.

Die Genauigkeit der Bestimmung ist nicht viel geringer als bei der Makrobestimmung. Der maximale Fehler beträgt etwa 1 bis 2 Relativprozent. Naturgemäß nimmt die Genauigkeit besonders bei kleineren Fluormengen mit der zu bestimmenden Fluormenge stark ab.

Wie zu erwarten war, liegen die Verhältnisse bei der Mikrobestimmung des Fluors neben Begleitionen genau so wie bei den Makrobestimmungen. Fluoride können auch hier neben Phosphaten bestimmt werden. Silikate und Carbonate müssen abwesend bzw. vorher entfernt worden sein. Von den Kationen stören Beryllium und Zirkonium sowie Eisen und Aluminium in größeren Mengen. Die Störungen der beiden letzteren Elemente können jedoch leicht durch eine vorherige Fällung mit Ammoniak beseitigt werden.

Auch hier stören die stark komplexbildenden Kationen die Bestimmung der Fluorionen immer dann, wenn jene in so großer Menge vorliegen, daß nicht mehr genügend Fluorionen zur Bildung des schwerlöslichen Triphenylzinnfluorids zur Verfügung stehen, was meist schon weit vor dem Erreichen der stöchiometrischen Äquivalentmenge der Fall ist. Die Anwesenheit größerer Mengen von Neutralsalzen in der Untersuchungslösung stört nicht. Eine Zusammenstellung von Bestimmungen bei Gegenwart von Fremdionen ist in Tabelle 3 wiedergegeben.

Arbeitsvorschrift

Die Untersuchungslösung, die einen p_H-Wert zwischen 4 und 8 und ein Volumen von etwa 2 ml haben soll, wird in einen bis zur Gewichtskonstanz gewogenen Mikrofilterbecher gebracht. Hierauf werden etwa 2 ml einer Lösung von Triphenylzinnchlorid in Chloroform, das an Triphenylzinnfluorid gesättigt ist, zugefügt. Als Reagensmenge wird die ungefähr zweieinhalbfache* stöchiometrische Menge der zu er-

* Bzw. die drei- bis dreieinhalbfache Menge bei Anwesenheit von Phosphat- oder Borationen.

wartenden Fluormenge verwendet. Man verschließt nun den Filterbecher mit den dafür vorgesehenen Verschlüssen (vgl. Abb. 1) und beginnt, anfangs langsam, später etwas rascher 30 Minuten zu rühren. Hernach läßt man noch einige Minuten stehen (nur bei Anwesenheit von Phosphaten oder Boraten wird sofort filtriert um Okklusionen zu vermeiden!) und saugt hierauf die beiden Flüssigkeitsphasen ab. Nachgewaschen wird mit einigen wenigen Milliliter Wasser und Chloroform, die beide an Triphenylzinnfluorid gesättigt sind. Der Mikrofilterbecher wird samt dem Magnetstäbchen bei 110° C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und gewogen. Der Fluorgehalt des Niederschlages beträgt 5,152%.

Tabelle 3. Die mikrogravimetrische Bestimmung von Fluoriden neben Begleitionen

μg F^- vorgelegt	Zugesetztes Ion		μg F^- gef.	Fehler in Relativ-%
	Art	Menge μg		
30,0	PO_4^{3-}	50	29,7	— 1,0
30,0	PO_4^{3-}	200	30,5	+ 1,7
100,0	PO_4^{3-}	50	101,1	+ 1,1
100,0	PO_4^{3-}	200	100,2	+ 0,2
30,0	BO_3^{3-}	100	30,2	+ 0,7
30,0	BO_3^{3-}	400	30,4	+ 1,3
100,0	BO_3^{3-}	100	100,8	+ 0,8
100,0	BO_3^{3-}	400	99,9	— 0,1
30,0	Al^{3+}	4	29,8	— 0,7
100,0	Al^{3+}	12	100,9	+ 0,9
100,0	Al^{3+}	22	99,6	— 0,4
100,0	Al^{3+}	36	64,2	— 35,8*
30,0	Fe^{3+}	10	30,0	± 0,0
100,0	Fe^{3+}	25	99,1	— 0,9
100,0	Fe^{3+}	45	101,2	+ 1,2
100,0	Fe^{3+}	75	76,4	— 23,6*

* Die Begleitionen haben hier die stöchiometrische Äquivalentmenge überschritten.

Zusammenfassung

Mit Hilfe eines neuen Fällungsverfahrens, der „Zweiphasenfällung", ist es möglich, Fluormengen zwischen 10 und 150 μg auch neben Phosphat- und Borat-Ionen sowie neben Aluminium und Eisen mit genügender Genauigkeit mikrogravimetrisch direkt zu bestimmen. Als Reagens dient das bekannte Triphenylzinnchlorid, das, in Chloroform gelöst, in einem Filterbecher 30 Minuten mit der wäßrigen Phase der Fluoridlösung gut verrührt wird. Der Niederschlag ist nicht hygroskopisch und kann bei 110° C leicht zur Gewichtskonstanz getrocknet werden. Der Umrechnungsfaktor ist sehr günstig und beträgt 0,05152.

Summary

A new precipitating procedure, the "two phase precipitating", makes possible a direct microgravimetric determination of amounts of fluorine between 10 and 150 μg with adequate accuracy and even in the presence of phosphate and borate ions, or of aluminium and iron. Triphenylstannic chloride is the reagent. Dissolved in chloroform, it is stirred with the aqueous phase for 30 minutes in a filtering beaker. The precipitate is not hygroscopic and can be readily brought to constant weight at 110°. The conversion factor is very favorable; it is 0.05152.

Résumé

Il est possible de doser par gravimétrie directe avec une précision suffisante des quantités de fluor comprises entre 10 et 150 μg aussi bien en présence d'ions phosphates et borates qu'en présence d'aluminium et de fer à l'aide d'une nouvelle technique de précipitation: la précipitation dans un milieu comportant deux phases. On utilise un réactif de précipitation connu, le chlorure de triphénylétain dont on agite pendant 30 minutes une solution dans le chloroforme en présence d'une phase aqueuse constituée par la solution de fluorure, dans le bécher de filtration. Le précipité n'est pas hygroscopique et peut être facilement desséché à poids constant par chauffage à 110° C. Le facteur de conversion est très favorable: il est égal à 0,05152.

Literatur

[1] *H. Ballczo* und *H. Schiffner*, Z. analyt. Chem. **152**, 3 (1956).

[2] *R. Dworzak* und *H. Ballczo*, Mikrochem. **26**, 322 (1939); *R. Dworzak* und *W. Reich-Rohrwig*, Z. analyt. Chem. **86**, 98 (1931).

From the Microanalytical Laboratory, Department of Organic Chemistry, The University, Liverpool, England

The Microdetermination of Sulphur in Organic Compounds

By

A. S. Inglis

(Received August 2, 1956)

Recently, a method was described for the microdetermination of chlorine in organic compounds[1,2] which involved decomposition with sodium peroxide and cation exchange of the alkaline fusion solution prior to titration of the chloride ion. When this procedure is followed by the titration of sulphate ion, as proposed by *Fritz* and *Yamamura*[3], it also gives a simple, rapid and precise microdetermination of sulphur. One also has an attractive means of determining chlorine and sulphur simultaneously.

Fritz and *Yamamura* found that their titration of sulphate with barium perchlorate and thoron indicator was accurate only for solutions containing relatively small amounts of foreign ions. Hence, as in the chlorine determination[1], addition of a cation exchanger to the alkaline fusion solution must replace the normal acidification process. However, it was necessary to change the fusion mixture for the sulphur determination because nitrate ions affect the titration; accordingly, the potassium nitrate–sugar mixture was replaced by ethylene glycol[4]. In addition, phosphate and, to a lesser extent, fluoride ions interfere. *Fritz* and *Yamamura* removed the phosphate ions by a rapid precipitation with magnesium carbonate. Our experiments with synthetic fluoride solutions suggested that the influence of fluoride ions may be nullified by utilizing the opposing influence of sodium ions. Table I shows that this procedure is quite satisfactory, at least over the range studied. The fluoride solution was prepared by dissolving sodium fluoride in distilled water (37 mg/35 ml) and stirring with a cation exchanger for 5 minutes. The volumes that were added to the sulphuric acid produced solutions equivalent to those that would be obtained in the analyses of compounds containing one, two, or three fluorine atoms to one sulphur atom.

Table I. Elimination of Fluoride Interference by Addition of Sodium Hydroxide Solution

0.005 M H_2SO_4 (ml)	0.025 M HF (ml)	0.01 M NaOH (ml)	0.005 M $Ba(ClO_4)_2$ required (ml)
5.000	—	—	4.860, 4.865
5.000	1.0	0.6	4.840, 4.850
5.000	2.0	1.2	4.870, 4.860
5.000	3.0	1.8	4.865, 4.860

The determination has not been applied extensively, but the results for sulphonal, benzyl thiouronium chloride and the *p*-toluene sulphonate of 3-hydroxy-5-methoxy-benzotrifluoride (see Table II) suggest that it is accurate, is applicable without modification to substances containing chlorine and nitrogen, and, with slight modification, is suitable for compounds containing fluorine. That the method is suitable for simultaneous determinations of sulphur and chlorine is evident from the results for benzyl thiouronium chloride. The values for sulphur and chlorine were obtained after taking a slightly larger sample weight and titrating aliquots of the acidified fusion solution for sulphate and chloride respectively.

Table II

Compound	Wt. (mg)	Analysis	Fd. (%)	Calc. (%)	Diff. (%)
Sulphonal	3.803	S	27.89	28.09	— 0.20
	3.297		27.91		— 0.18
	3.973		27.99		— 0.10
p-Toluene sulphonate of 3-hydroxy-5-methoxy-benzotrifluoride	6.956	S	9.37	9.26	+ 0.11
	5.942		9.32		+ 0.06
	6.234		9.24		— 0.02
Benzyl thiouronium chloride	4.977	S	15.89	15.84	+ 0.05
	4.558		15.72		— 0.12
	5.759		15.76		— 0.08
	6.809	S	15.94	15.84	+ 0.10
		Cl	17.40	17.49	— 0.09
	6.678	S	15.97	15.84	+ 0.13
		Cl	17.82	17.49	+ 0.33
	6.027	S	16.03	15.84	+ 0.19
		Cl	17.64	17.49	+ 0.15

Experimental

Reagents

Sodium peroxide M. A. R.: Pellets were powdered before use.
Ethylene glycol.
Hydrochloric acid 3.5 N.

Amberlite IR 120 (H) A. R.: The exchanger was activated with 3.5 *N* hydrochloric acid. It was washed acid-free with distilled water, filtered on a Buchner funnel, and then pressed between large filter papers until the excess water had been removed. The exchanger, which was still dark in colour, was kept in a stoppered bottle.

Platinum black catalyst: A clean piece of platinum sheet (2 × 2.5 cm) was made the cathode against a platinum wire anode in a bath of platinic chloride (3%) containing a little lead acetate, and electrolysis was carried out for 10 minutes.

Barium perchlorate 0.01 N: Barium perchlorate (1.72 g) was dissolved in distilled water (160 ml) and made up to 1 l with 95% alcohol. The apparent p_H was adjusted to about 3.5 with perchloric acid.

Sulphuric acid 0.01 N: The sulphuric acid, which was standardized iodometrically, was used to standardize the barium perchlorate solution.

Thoron (sodium salt of 1-(o-arsono-phenyl-azo)-2-naphthol-3-6-di-sulphonic acid): 0.2% solution in water.

Sodium hydroxide 0.01 N.

Ethyl Alcohol 95%.

Procedure

1. *Sulphur:* Ethylene glycol (2 drops, ca. 50 mg) was added to the cup of the bomb (capacity 2 ml), the substance (3–10 mg) was transferred from a short-handled weighing tube, then sodium peroxide (0.8 g) was added from a small flat-bottomed scoop. The lid, which had a washer of "Klingerit", was placed in position and screwed down tightly.

The bomb was held with platinum tipped forceps in the non-luminous flame of a Bunsen burner for $2^1/_2$ minutes. It was heated gently for the first 20 seconds or so, after which it was heated more strongly, the eye at the base of the bomb becoming red at the end of the heating time. (No special precautions were taken during this operation but it is advisable either to have a perspex screen or to wear glasses.) The bomb was cooled under the tap, dried with a clean towel and opened. The fused mixture should be almost entirely at the bottom of the bomb and have a blackish appearance.

The lid was held over a 30-ml beaker and rinsed with distilled water. The cup of the bomb was placed in the beaker, a platinum black catalyst added, then distilled water until it half covered the cup. (The diameter of the Pyrex beaker was just smaller than the length of the cup of the bomb. It was enlarged by making a vertical groove suitable for housing the eye of the cup and running to the lip of the beaker.) A watch glass was placed over the beaker which was heated until the reaction began to accelerate; the burner was then turned down quite low and the contents of the beaker allowed to boil gently for 10 minutes. The watch glass,

sides of the beaker, platinum black catalyst and cup were rinsed carefully with distilled water (the former being removed with platinum tipped forceps and the latter with a bent platinum wire sealed into a glass rod) and allowed to cool to room temperature (20° C). The solution was transferred to a 50-ml volumetric flask, the contents made up to 50 ml with distilled water and well mixed.

The exchanger (27 g) was added to a dry tall 100-ml beaker, rinsed with about 10–15 ml of the alkaline solution, and then mechanically stirred with the remainder of the solution for 5 minutes. The solution was decanted into a dry container and a 25-ml aliquot was taken for the titration.

Ethyl alcohol (100 ml) and 3 drops of indicator were added to the aliquot in a conical flask and the solution was titrated with barium perchlorate to the first permanent pink colour.

2. *Sulphur Compounds Containing Fluorine:* The analysis was carried out as for (1) except that a small volume of 0.01 *N* sodium hydroxide was added before the titration. The volume added depends upon the relative amount of fluoride present (see Table I).

3. *Simultaneous Sulphur and Chlorine Determinations:* The procedure was the same as for (1) except that 10-ml aliquots were taken for the respective titrations. Then, (a) the sulphate was titrated with barium perchlorate after addition of ethyl alcohol (40 ml) and 2 drops of indicator; (b) the chloride solution was titrated potentiometrically with silver nitrate solution[1,2] after addition of ethyl alcohol (10 ml).

Acknowledgment

The author wishes to express his appreciation of the encouragement given him by Professor *Alexander Robertson*, F. R. S.

Summary

A simple, rapid, precise microdetermination of sulphur is described. The substance is decomposed by sodium peroxide in a nickel bomb, the solution of the fused mixture is treated with a cation exchanger, and the sulphate is titrated directly with barium perchlorate according to the method of *Fritz* and *Yamamura*. The procedure is also applicable to the determination of chlorine, hence simultaneous sulphur and chlorine determinations are possible.

Zusammenfassung

Eine einfache, rasche und genaue Mikrobestimmung des Schwefels wird beschrieben. Die Substanz wird mit Natriumperoxyd in einer Nickelbombe zerstört, die Lösung der Schmelze mit einem Kationenaustauscher behandelt und das Sulfat unmittelbar mit Bariumperchlorat nach der Methode von

Fritz und *Yamamura* titriert. Das Verfahren ist auch für die Bestimmung von Chlor anwendbar, so daß die gleichzeitige Bestimmung von Schwefel und Chlor möglich ist.

Résumé

Description d'une méthode simple, rapide et précise, de microdosage du soufre. La substance est décomposée par le peroxyde de sodium dans une bombe de nickel, la solution du mélange fondu est traitée par un échangeur de cations et le sulfate traité directement par le perchlorate de baryum d'après la méthode de *Fritz* et *Yamamura*. Le procédé est également applicable au dosage du chlore d'où il résulte la possibilité de doser simultanément soufre et chlore.

References

[1] *A. S. Inglis*, Mikrochim. Acta [Wien] **1955**, 934.
[2] *A. S. Inglis*, Mikrochim. Acta [Wien] **1956**, 1488.
[3] *J. S. Fritz* and *S. S. Yamamura*, Analyt. Chem. **27**, 1461 (1955).
[4] *B. Wurzschmitt*, Mikrochem. **36/37**, 769 (1951).

Nuffield Research Group in Extraction Metallurgy, Imperial College, London, S. W. 7

A Gas Volumetric Apparatus for the Determination of Milligram Quantities of Alkaline Earth Metals

By

P. S. Rogers, D. J. M. Bevan and **J. W. Tomlinson**

With 1 Figure

(Received August 27, 1956)

Introduction

A gas-volumetric technique has been devised whereby small percentages of metal dissolved in or mixed with a salt phase can be determined, and which requires only one or two milligrams of metal per sample. The apparatus has been used successfully in this laboratory for the determination of the solubility of magnesium and calcium in their fused halides and for the determination of calcium dissolved in solid lime.

At first, a 2-ml gas burette was used, this being so arranged as to measure the volume of hydrogen given off when the sample was dissolved in 1 ml of "boiled-out" water. This method was checked using magnesium as described below for the modified apparatus. A standard deviation of $\pm$ 0.3% was found. However, when 0.1 to 0.4 g of magnesium chloride was dissolved in 1 ml of water, the volume change was in every case larger by approximately 0.04 ml than that calculated from the loss of solid and the change in density of the solution. Since this error increased with increasing area of glass in contact with the solution, it was concluded that the effect was, at least in part, caused by desorption of gas from the glass walls of the dissolution vessel.

To overcome this effect, and to avoid the necessity of applying uncertain corrections for volume changes on solution, the following apparatus, in which the sample chamber could be evacuated, was developed.

Apparatus and Method

The apparatus is shown in Fig. 1. The 2-ml burette J is used for the measurement of the volume of gas, but where the volume exceeds 2 ml, the 10-ml burette H can be used in addition. These are enclosed in a water jacket.

The reservoirs L and M are filled with distilled water, and, just before an analysis is to be carried out, the water in the reservoir L is saturated with hydrogen by bubbling the gas through it for 15 minutes. This eliminates errors caused by the solubility of hydrogen in water which, it was found, could amount to 5%. Saturation with hydrogen also serves to remove other dissolved gases. The bore of the tap F is filled with water from the reservoir by applying pressure from a blow bulb and the tap is then closed. The sample tube G, containing a weighed sample and a small piece of iron sealed in glass to act as stirrer, is attached to the apparatus. The sample chamber and gas burette are immediately evacuated to about 10^{-3} mm Hg with tap C open. Tap C is then closed and air is let into the burette through taps A and B. The burette is now filled with water from M, and water from L is raised to a fixed mark in H via the tap D. The tap F is reversed, allowing water to flow on to the sample, and this tap is then closed and tap C opened. The evolved hydrogen rises into the burette and any bubbles which remain are cleared by agitating the iron stirrer by means of a magnet. The water level is again raised to the fixed mark in arm H and the levels in the burette J and levelling tube K made equal by use of reservoir M. The final burette reading is then noted. On filling a 5 ml, evacuated sample chamber with hydrogen saturated water, about 0.02 ml of hydrogen is evolved as measured in a blank experiment. The accuracy of the apparatus as determined below indicates that under the present conditions, a corresponding amount of hydrogen must be redissolved during the evolution of gas by the sample.

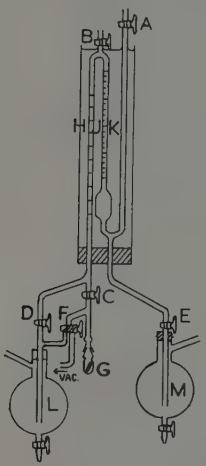


Fig. 1

Accuracy

The apparatus has been checked as follows. Small pieces of magnesium, between 1 and 2 mg in weight, were weighed on a microbalance to $\pm 7\,\mu g$, and dissolved in dilute hydrochloric acid in the apparatus. From the

results of seven experiments, the weight of magnesium corresponding to the volume of hydrogen given off was then calculated and found to be 99.93% ± 0.3% of the weighed amount. This shows that the apparatus is accurate to ± 0.1%, the standard deviation of a single measurement being ± 0.7%. These figures represent maximum errors for the apparatus, since an error of ± 0.5% is inherent in the microbalance weighings. No change in volume of gas was noted on dissolving pure magnesium chloride in water or acid in the sample vessel.

Summary

An apparatus for the determination of alkaline earth metals dissolved in or mixed with a salt by measurement of the equivalent volume of hydrogen evolved on dissolution in water is described. An accuracy of better than 1% is claimed.

Zusammenfassung

Ein Apparat für die Bestimmung von Erdalkalimetallen, die in einem Salz gelöst oder damit gemischt sind, wird beschrieben. Die bei der Auflösung in Wasser entstehende Menge Wasserstoff wird gemessen. Die erzielte Genauigkeit ist besser als 1%.

Résumé

Description d'un appareil permettant le dosage des métaux alcalino-terreux dissous dans un sel ou en mélange avec lui par mesure du volume équivalent d'hydrogène dégagé lors de la dissolution dans l'eau. On indique une précision supérieure à 1%.

Department of Chemistry, The University, Birmingham, 15, England

Studies in Qualitative Inorganic Analysis. I.
Introduction

By

R. Belcher

(Received July 23, 1956)

Although qualitative inorganic analysis has been practised for over a century, many outstanding problems remain to be solved; examples will be mentioned later in this paper. Some of the reasons for their existence are:

1. Qualitative analysis is used essentially for teaching purposes, and therefore is rarely subjected to the same critical examination or investigation as other branches of analytical chemistry.

2. Methods of separation which are basically inefficient may only give blank results in a limited number of cases, because sufficient of the ion or ions being sought may still be present to give a positive final test. Hence the extent of their inefficiency may be overlooked.

3. When difficulties are encountered it is not an easy matter to decide whether the scheme of analysis or the operator is at fault. Usually the latter is at a very early stage of his training and has not acquired a sufficiently critical outlook or powers of observation to recall any mistakes he has made. Difficulties of this kind with the same type of operator are less marked in quantitative analysis because he is then tied down to a fairly rigid set of instructions.

4. Certain tests which are believed to be selective are not so, and may give a positive test with an ion not supposed to interfere. When standard text-book reactions give the wrong result in the hands of students the teacher is inclined to attribute it to careless work. For example, the Fenton test for tartrate is said not to be affected by citrate, but in fact is so; and the permanganate test for oxalate in the presence of fluoride (these two ions are usually separated together as calcium salts insoluble in acetic acid) can give a positive test when oxalate is absent.

5. When new tests are introduced they may produce problems of their own which call for a modification of the separation methods used before the test is applied. The cause of the troubles which arise may be overlooked for years. For example, *Smith* and *Shute*[1] have shown recently that when aluminium, chromium and iron are separated in the usual way, sufficient chromium(III) and iron(III) ions are present in the solution to give a positive test for aluminium with Aluminon, when in fact aluminium is absent. They modified the separation so that this trouble is avoided.

In the Midlands, which is a strong centre of both academic and industrial analytical chemistry, many of these problems of qualitative inorganic analysis have been the subject of private discussions for some years. Eventually it was considered desirable to form a committee to discuss and investigate outstanding problems, and the Midlands Qualitative Inorganic Analysis Committee came into existence in August, 1954. The original committee later co-opted other members, some of whom are situated in areas remote from the Midlands. Although attendance at meetings is impossible for such members, they are kept in touch with events by the minutes, and they undertake investigations proposed by the Committee.

The Committee is constituted as follows:

Dr. *R. Belcher*, Chairman, University of Birmingham,
Mr. *J. A. Waddams*, Recorder, Wolverhampton and Staffordshire Technical College,
Mr. *D. Bailey*, Birmingham Central Technical College,
Mr. *L. S. Bark* Derby Technical College,
Dr. *J. E. Gregory*, Birmingham Central Technical College,
Mr. *O. B. Hayes* (co-opted), Handsworth Technical College, Birmingham,
Mr. *W. M. Dowson*, Coventry Technical College,
Mr. *G. A. Edwards* (co-opted), Chance Technical College, Smethwick,
Mr. *R. Harrison*, Gloucester Technical College,
Dr. *A. G. Catchpole* Derby Technical College,
Mr. *W. F. Jones* (co-opted), Victoria Institute, Worcester,
Dr. *G. Tolley*, Birmingham Central Technical College,
Mr. *T. E. Axford*, Bath Technical College,
Mr. *C. A. Colman-Porter*, S. Devon Technical College,
Dr. *W. I. Stephen*, University of Birmingham,
Dr. *T. S. West*, University of Birmingham,
Dr. *H. C. Smith*, Coventry Technical College,
Mr. *J. M. Winterburn* (co-opted), Handsworth Technical College, Birmingham,
Mr. *R. J. Winterton*, Coventry Technical College,
Dr. *H. Weisz*, Technical University, Vienna, and University of Birmingham.

It was agreed that the main objects of the Committee would be to prepare:

1. A recommended scheme for the examination of the commoner cations based on classical practice (Too many unknown factors would come into play if other schemes were examined).

2. A recommended scheme for the examination of anions.

3. A recommended scheme for the examination of the less common cations.

Since the Committee has no intention of publishing its overall recommendations until they have been thoroughly tested in the laboratories of its members, some considerable time must elapse before these can be made generally available. However, as part of the main plan many subsidiary investigations have been put in hand, some of which have been completed. It is considered that publication of work of this kind will be useful, and a series of papers following the present one, is now projected. Before this series of papers was envisaged, one completed investigation was published in this journal by Dr. *H. Weisz*[2]. This was undertaken at the request of the Committee, and is mentioned and referred to here to link with the rest of the series. It is hoped that others will try out the various recommendations and will communicate their findings to the Committee. It should be mentioned, however, that whenever possible all recommendations are checked independently in at least two other laboratories before they are published.

Some of the problems which have been and are being examined may be of interest. For example, some text-books state that borate must be removed because of the insolubility of certain metal borates in alkaline solution; other text-books state that it is unnecessary to do so because ammonium chloride prevents precipitation. It is not certain to what extent nitrate causes trouble in Group 2 by oxidising hydrogen sulphide to sulphate (with concomitant loss of alkaline earths) or how far colloidal sulphur formed during the passage of hydrogen sulphide, is converted to sulphate. There is controversy about the respective merits of lithium hydroxide and potassium hydroxide for parting Group 2. And the protagonists of the latter school divide forces as to wheter 0.5 *N* or 2 *N* solutions should be used. All tests for tin are based on the reducing properties of the stannous ion; it would be useful to have at our disposal a fairly selective test for stannic tin, the form in which the tin is finally obtained. The findings of *Smith* and *Shute* have already been mentioned regarding the aluminon test for aluminium. Their findings have been confirmed, but the alternative method of separation they propose is somewhat tedious. The difficulties they found would disappear if a test for aluminium were available, which is unaffected by ferric and chromic ions.

These are but a sample of the problems which the Committee is investigating; others will be discussed in subsequent papers of the series.

One of the first matters the Committee had to decide was the recommended scale of working, for it would multiply the task by investigating macro, semimicro and micro methods. It was unanimously decided to recommend the semimicro scale, for experience has shown that this gives the best results in the hands of students. Many of the tests used for final confirmation, however, are spot-tests. The definition of this scale of working will be given in a later paper.

One of the minor problems to be overcome lies in specifying the apparatus required. Semimicro qualitative analysis is the gadgeteers paradise, and all kinds of useful but nonetheless unessential pieces of apparatus have been recommended. These may be advantageous for the research worker or for very small groups of students, but are economically impossible with the large classes with which most institutes have to contend. A sub-committee is preparing a list of recommended apparatus and this will be kept to a minimum. The recommendations of this sub-committee should be of value to commercial supply-houses who are at present asked to supply a great variety of student sets. If large numbers of standard sets of equipment can be prepared costs should be kept to a minimum.

Some authorities advocate that the number of separations should be reduced to a minimum, or eliminated where possible for teaching purposes, and there is much to be said for this point of view. However, the general body of opinion in Britain appears to be against this practice and prefers to retain separation methods. This attitude has a profound influence on what is to be said later in this series and it should not be construed that this is necessarily the opinion of the present author.

It has been suggested that the provision of a fool-proof scheme would be undesirable because it would eliminate the initiative and resource which the present state of qualitative analysis calls forth. Any experienced teacher should know that it is an impossibility to devise such a scheme and in any case, this is not the object of this work. The main object is to eliminate many of the misleading and contradictory statements concerning the reactions of qualitative inorganic analysis. When these have been rationalised there will still be the same room for initiative and resource, with the difference that the student and teacher will not be led astray to the same extent as at present.

Summary

Although qualitative inorganic analysis has been recognised as a valuable medium for teaching chemistry for over a century, many problems still remain unsolved. The Midlands Qualitative Inorganic Analysis Committee was formed in August 1954 to study these problems, to examine conflicting statements made in various text-books on the

subject and to attempt to compile a reliable scheme for semi-micro analysis. The Committee consists of representatives from all the advanced teaching institutions in the Midlands of England and has some corresponding members from farther afield.

Since some considerable time must elapse before any recommended scheme can be made generally available, a series of notes and papers is to be published in this journal as the various investigations are completed.

It is hoped that other teachers interested in this work who have suitable observations to make, will correspond with the Committee.

Zusammenfassung

Wiewohl die qualitative anorganische Analyse seit mehr als einem Jahrhundert für den chemischen Unterricht als wertvoll angesehen wird, ist dennoch so manches in diesem Zusammenhang ungeklärt. Das „Midlands Qualitative Inorganic Analysis Committee" wurde im August 1954 mit der Aufgabe gebildet, dies zu untersuchen, widersprechende Angaben verschiedener Lehrbücher zu prüfen und die Ausarbeitung eines verläßlichen Analysenganges im Halbmikromaßstab anzustreben. Diese Gruppe besteht aus Vertretern aller höheren Unterrichtsanstalten in den Midlands of England und einigen korrespondierenden Mitgliedern aus anderen Gebieten.

Da bis zur Fertigstellung eines allgemein verwendbaren Analysenganges längere Zeit vergehen wird, soll eine Reihe von Mitteilungen in dieser Zeitschrift veröffentlicht werden, sobald einzelne Teiluntersuchungen abgeschlossen sind.

Am chemischen Unterricht interessierte Lehrpersonen sind eingeladen, mit dem Komitee über einschlägige Fragen und Beobachtungen in Verbindung zu treten.

Résumé

Bien que l'on ait reconnu depuis plus d'un siècle la valeur de l'analyse qualitative minérale comme moyen d'enseignement de la chimie, il reste de nombreux problèmes à résoudre. Le «Midlands Qualitative Inorganic Analysis Committee» (Comité d'Analyse minérale qualitative des Midlands) a été constitué au mois d'août 1954 pour étudier ces problèmes, pour examiner les affirmations contradictoires relevées dans différents livres d'enseignement de l'analyse et pour tenter d'établir un schéma valable de semi-microanalyse. Le comité est composé de personnalités représentatives de toutes les institutions d'enseignement supérieur des Midlands d'Angleterre et de quelques membres correspondants extérieurs.

Comme il est nécessaire de disposer d'un temps considérable avant de pouvoir recommander un schéma d'emploi général, une série de notes et d'articles sera publiée dans ce journal au fur et à mesure de la terminaison des différentes recherches.

Nous espérons que d'autres professeurs intéressés par ce travail correspondront avec le Comité pour faire part de leurs propres observations.

References

[1] *S. B. Smith* and *J. M. Shute*, J. Chem. Educ. **32**, 380 (1955).
[2] *H. Weisz*, Mikrochim. Acta [Wien] **1956**, 1225.

Department of Chemistry, The University, Birmingham, 15, England

Studies in Qualitative Inorganic Analysis. II*

A Semi-Systematic Scheme for the Detection of Anions

By

R. Belcher and **H. Weisz****

(Received August 17, 1956)

The method of detecting anions which is recommended in most text-books of qualitative analysis consists of

(a) Identification by the evolution of gases after treatment of the sample with dilute and concentrated acid;

(b) The application of special tests (e. g. for nitrate and borate);

(c) Separation of the remaining acids as insoluble salts. The last is the least satisfactory part of this system of testing, for the disturbing effect of certain anions which one would reasonably expect to be present is usually ignored.

Many systematic schemes have been advanced, but very few text-books recommend them. Usually such schemes work well with a very limited number of anions, but break down when an attempt is made to include further anions. More comprehensive schemes usually omit a few anions which would be expected to accompany those covered, e. g. tartrate is included, but not citrate. Few schemes take heed of the fact that if the sodium carbonate prepared solution is acidified, iodate or bromate in the presence of iodide or bromide decompose to yield the free halogen. As far as we know no text-book which includes benzoate points out that the free acid is precipitated when the sodium carbonate prepared solution is acidified, *yet this anion is later included in the calcium group which is used to separate organic acids.*

These difficulties are generally overcome by restricting the number of anions, by issuing only single or binary mixtures of the "less common ions" or, where the course is of a sufficiently advanced nature to demand

* Part. I of this series appeared in Mikrochim. Acta [Wien] **1956**, 1842.

** Present address: Technische Hochschule, Wien, Austria.

the inclusion of a large number of anions, by adopting the laborious system of applying a series of special tests. We consider this system too haphazard and time-consuming and have therefore sought a more systematic method of approach.

We have given extended trials to a number of systematic schemes and have concluded in keeping with many other investigators that a completely systematic scheme is impracticable. Some schemes (which unfortunately omit anions which one would expect to be present) are actually systematic in that the stepwise evolution of gases is done in a distillation flask and the precipitation tests are made on the residual solution. In our opinion such schemes are unwieldy. It is much simpler to carry out evolution tests by the usual methods and then to use another portion of the solution for precipitation tests. Unfortunately schemes such as these which we have examined cannot be so modified because many anions which cause difficulties are not included.

We have attempted to devise a new scheme to overcome these difficulties. So far this has worked well in the hands of students and has given far less trouble than any other scheme we have examined. In devising such a scheme the first step was to decide which anions should be included, for a limit has to be imposed at some stage. As a start we chose therefore most of the anions whose reactions are listed in the book of *Caven*[1], which is one of the more comprehensive texts published in England. Some additional anions were included in this list. We have not attempted to include such anions as hypophosphite, dithionate etc. for it is doubtful if these are ever issued in complex mixtures. Any teacher who feels that such anions should be included is at liberty to attempt to fit them into this or, for that matter, any other scheme. We have never seen any attempt made to include such "rare" anions in any scheme either systematic or non-systematic, although occasionally it is possible to find an isolated table for the separation of kindred anions; before such a table can be used it seems to be necessary for the student to know first that such a group of kindred anions is in the mixture. Accordingly, we have felt justified in omitting such anions.

The next question to be settled was the number of organic anions to be included. Acetate (and possibly formate), oxalate, citrate and tartrate are generally included for well-known reasons. Some teachers consider it desirable to extend this list so that the student after finding organic matter is present does not use too much guesswork. But again, there is clearly a limit to the number to be included in a scheme of inorganic analysis. We have added to these five, benzoate, succinate and salicylate which we consider to be sufficient to achieve the above purpose. Some teachers include gallic, cinnamic and malic acid but we consider that such an extension is undesirable.

Our scheme caters for 36 ions (or if desired 39 ions) which we consider should be sufficient for any University course. In more advanced practical examinations we have never known "rarer" anions to be issued other than as a single substance, which makes the task of identification a comparatively simple matter. We do not include cyanide, chlorate and perchlorate because many teachers, including ourselves, never issue such substances owing to the dangers involved. However, these can be included if desired and we describe and suggest later how they may be fitted into the scheme.

The basis of our scheme is as follows:

1. All anions which can be detected by the evolution of gases are tested for in this way by conventional methods. Nitrate is tested for separately.

2. The remaining ions are detected by a systematic scheme which includes some of the anions from (1). Generally such anions are detected more readily by the systematic scheme. In the presence of certain anions found in (1) it is necessary to pretreat the test solution before applying the systematic scheme in order to prevent their interfering.

The following anions are detected by (1) by established methods which need not be described here (nitrate by special test):

Carbonate	Cyanate	Fluoride*	Permanganate**
Sulphate	Acetate	Sulphide*	Hypochlorite***
Nitrate	Formate	Cyanide**	Silicofluoride***
Nitrite		Thiosulphate**	Persulphate***

* These ions also appear in the systematic scheme.

** These ions interfere and have to be destroyed.

*** These ions are destroyed when preparing the sodium-carbonate solution.

The remaining anions are detected as follows:

1. A specially prepared solution of silver ammine nitrate containing ammonium carbonate is added to the sodium carbonate prepared solution. The following anions precipitate: Chloride, bromide, iodide, thiocyanate, ferrocyanide, ferricyanide, sulphide, arsenite, periodate. Solutions of ammoniacal silver nitrate may form silver fulminate, which involves the danger of explosion. Although we have used such solutions for some time without accident we recommend the use of two separate solutions: solution A is a fairly concentrated silver nitrate solution, solution B is a dilute ammonia-ammonium carbonate solution. A mixture of these in the correct proportion (see later) allows the selective precipitation of the above anions in the presence of bromate and iodate, which precipitate with the conventional silver nitrate reagent.

2. The solution is acidified with nitric acid. This causes the precipitation of benzoic acid, salicylic acid (in part), silver iodate, silver bromate

and silica. The organic acids are extracted from the solution and the precipitate with benzene. The remaining precipitate is then centrifuged off. If gelatinous, silica is present and it is flocculated with gelatine.

3. Ammonia is added to the solution. If silica was present in (2) the remainder may come down here and is removed, together with any amphoteric metals (e. g. tin, aluminium). Calcium nitrate is added and the following ions precipitate: Fluoride, oxalate, tartrate, arsenate, phosphate. These are divided into two subgroups with acetic acid which leaves fluoride and oxalate undissolved.

4. Barium nitrate is added to the solution to precipitate chromate and sulphate.

5. The final solution contains succinate, citrate, borate and a trace of bromate.

Special tests are then applied to each group to identify the constituents. If thiosulphate, cyanide or permanganate was found to be present in the preliminary tests, they are destroyed by boiling with hydrogen peroxide. If it is desired to include chlorate and perchlorate, these ions would be carried through to (5) and probably could be identified as follows: Reduce a portion of the solution with sodium nitrite. Silver chloride will precipitate if chlorate is present. If bromate is present, silver bromide is precipitated, but it is a simple matter to identify both. Perchlorate can be reduced to chloride by zinc and sulphuric acid in the presence of molybdate catalyst[2].

The general plan of the scheme is given in the following tables. It should be emphasized that the identification tests which we recommend are a matter of personal choice, and it may well be that other investigators may prefer to use alternative tests within the groups. Our choice has been influenced to some extent by the simplicity of application of the test.

Systematic Scheme for the Detection of anions not detected by preliminary tests

The following ions which should have been detected by preliminary tests interfere and must be destroyed

Cyanide,
Thiosulphate,
Permanganate.

Cyanide and thiosulphate are destroyed by adding 5–6 drops of 20 vol. H_2O_2 to the Na_2CO_3 extract and boiling for 5 minutes. Cyanide is converted to cyanate which does not interfere; thiosulphate is converted to sulphate. Permanganate is destroyed by adding 20 vol. H_2O_2 dropwise until decolourised. The MnO_2 is centrifuged off and the solution is boiled 5 minutes to destroy excess H_2O_2.

Transfer 2 drops of solution A (17 g $AgNO_3$ in 30 ml H_2O) to a semimicro centrifuge tube, add solution B (25 ml sat. $(NH_4)_2CO_3$ + 10 ml NH_4OH + + 100 ml H_2O) dropwise whilst mixing, until the precipitate which is first formed just goes into solution. Avoid excess! Add 1 ml of the prepared Na_2CO_3 solution of the sample, mix and centrifuge

Ppt.	*Solution*
Cl^-, Br^-, I^-, CNS^-, $FeCy_6^{3-}$, $FeCy_6^{4-}$, AsO_3^{3-}, IO_4^-, S^{2-} *Examine by A*	Add a sliver of litmus paper, then 14 *N* HNO_3 dropwise with shaking until acid. Add 1 drop more. Ignore any ppt. which forms intermediately and which redissolves. If a gelatinous precipitate of silica forms add 2 drops of gelatin solution to coagulate it. Add 0.5 ml benzene, shake, transfer 2 drops to a small watch glass and evaporate. If there is a residue, extract 2–3 times more with benzene*. Evaporate under funnel attached to waterpump

Extract	*Solution*
Salicylate Benzoate *Examine by B*	(and ppt.) Centrifuge if a ppt. remains**

Ppt.	*Solution*
BrO_3^-, SiO_2 IO_3^- *Examine by C*	Add conc. ammonia solution till alkaline. Then 4 drops of 1 *M* calcium nitrate***

Ppt.	*Solution*
Wash twice with water. Add 2 drops H_2O and 3 drops acetic acid	Add 0.25 *M* $Ba(NO_3)_2$

Ppt.	*Solution*	*Ppt.*	*Solution*
F^-	Tartrate	CrO_4^{2-}	Succinate, Borate,
Ox^{2-}	PO_4^{3-}	SO_4^{2-}	Citrate, (BrO_3)
Examine by D	AsO_4^{3-} *Examine by E*	*Examine by F*	*Examine by G*

* It is not necessary to evaporate the whole extract, a few drops should suffice, but it is necessary to remove the residual organic acids by the further extraction. These further extracts may be discarded.

** If chromate is present in large amounts it may precipitate here. This precipitate is easily recognised and does not interfere with the tests for iodate and bromate. Silica does not interfere. It should be tested for in a lead crucible after mixing with NaF. More silica may deposit after adding ammonia but does not interfere. It should be centrifuged off; it is a simple matter to differentiate between this and an amphoteric hydroxide, which may precipitate here.

*** Calcium tartrate only comes down slowly. The solution should be cooled under the tap, and the sides of the tube scratched to promote precipitation. The tube should be allowed to stand for 5 minutes.

In this process certain other ions are affected

Sulphite	→ sulphate
Sulphide	→ sulphate
Ferricyanide	→ ferrocyanide
Arsenite	→ arsenate
Periodate	→ iodate

Hence if sulphate, arsenate, iodate or ferrocyanide is found after this treatment, it will be necessary to test the original solution for the presence of the possible original ions and the final ions. It should be remembered, however, that certain of these ions are incompatible and therefore would not be present together.

A

1. Test for Ferrocyanide, ferricyanide and sulphide

(a) Place a portion of precipitate on a filter paper, spot with conc. HCl and with $FeCl_3$ solution.

Blue colour = Ferrocyanide

(b) Place another portion on a filter paper, spot with one drop of HCl and a drop of $FeSO_4$ solution.

Blue colour = Ferricyanide

(c) Place another portion on a filter paper, add 1–2 drops of 10 per cent sodium thiosulphate.

If a black stain remains = Sulphide

2. Test for Periodate and Arsenite

Extract the rest of ppt. with 1 : 1 HNO_3. (If periodate is present the brown Ag salt turns white before dissolution.) Centrifuge

Ppt.	*Solution*
Save for tests on halides and CNS^-. Section A 3	Add a sliver of litmus paper and make ammoniacal. Add 3–4 drops H_2O_2 and allow to stand 2–3 minutes. Acidify with HNO_3. Centrifuge

White ppt.* = *Periodate*	*Solution*
	Make ammoniacal, then acidify with acetic acid. Add 2–3 drops of $AgNO_3$. A red-brown precipitate = = *Arsenite***

* Periodate is reduced by H_2O_2 to give iodate; on acidifying the insoluble silver iodate is formed.

** The treatment with H_2O_2 will oxidise arsenite to arsenate and therefore red-brown silver arsenate precipitates.

It should be remembered that periodate and arsenite cannot co-exist; therefore if it is known that periodate is absent it will be sufficient to acidify with acetic acid immediately after treatment with H_2O_2.

3. Test for halides and thiocyanate[3]

To the residual precipitate from A (2) add a few drops of acetic acid and zinc metal and warm for 15 minutes. (This operation should be put in hand whilst completing the rest of the scheme.) Centrifuge if necessary*.

(a) Spot 1 drop on filter paper, hold over nitric acid fumes and spot with starch solution.

Blue colour = Iodide

(b) Spot 1 drop on filter paper, mark the limits with a pencil, and dry. Spot with 1 drop of 20 volume H_2O_2–glacial acetic acid (2 : 1) and bring nearly to dryness. If necessary, repeat this operation**. Spot with 1 drop of 0.5 per cent fluorescein in alcohol. Warm.

Red coloured ring = Bromide

(c) Place 2 drops in a watch-glass, add 1 drop of H_2O_2–acetic acid (2 : 1), a small drop of nitric acid (1 : 1) and 1 drop of oxine solution [2 per cent in acetic acid (1 : 4)] warm for about 4 minutes. Add 1 drop of $AgNO_3$***.

White ppt. = Chloride

(d) Place 1 drop on paper and spot with a solution of $FeCl_3$ containing a small amount of $FeSO_4$. If iodide is absent use only $FeCl_3$ solution†.

Red colour = Thiocyanate

* The reduction is to release the free ions. Ferricyanide is reduced to ferrocyanide and both ions precipitate as insoluble Zn salts. Silver is precipitated as metal.

** H_2O_2–acetic acid oxidises iodide to iodate and prevents its interfering.

*** Bromine and iodine and probably thiocyanate react with oxine and do not disturb the test for chloride.

† When iodide is present, free iodine is formed and masks the red colour. Ferrous ions prevent this.

B

Add 1–2 drops of ammonia solution (1 drop conc. in 10 ml H_2O) dissolve and warm to expel excess ammonia. Add 1 drop of neutral 0.5% ferric alum solution.

*A yellow-white precipitate denotes Benzoate**.

A violet colour denotes Salicylate.

* If the violet colour forms, add 1–2 drops ferric solution to ensure there is sufficient left to react with benzoate. Care must be taken not to add an undue excess because the precipitate may dissolve.

C

Add acetic acid and zinc, warm and test for iodine and bromine immediately a yellow-brown colour forms as described in A.

Positive tests indicate *Iodate, Bromate.*

D

Wash the precipitate once with acetic acid and discard the washing, to remove last traces of tartrate.

Fluoride. Remove a portion of the precipitate and dry on a small watch-glass. Transfer to a lead crucible, mix intimately with silica powder using a fine-pointed glass rod. Add 2 drops of conc. sulphuric acid, cover immediately with a celluloid cover with a drop of water on the underside.

A white turbidity in the drop denotes *Fluoride*. To the rest of the precipitate add 4 drops H_2O and 1 drop conc. sulphuric. Add 1 drop of 0.01 *N* $KMnO_4$. Prepare by mixing 1 drop 0.1 *N* $KMnO_4$ with 9 drops H_2O. If decolorised denotes *Oxalate*. A blank test should be carried out.

E

1. *Tartrate.* Divide the solution into 3 parts, test each as follows: Add same volume of silver periodate reagent[4]. Warm. A white ppt. denotes *Tartrate.*

2. *Arsenate.* Add a little solid hydroxylamine to reduce As (V). Add H_2S in acetone. A yellow ppt. = *Arsenate.*

3. *Phosphate.* Add an equal volume of tartaric-molybdate solution[5]. Shake and warm. Yellow ppt. = *Phosphate.*

F

Add a few drops of water, a crystal of KI, starch solution, and 1–2 drops conc. HCl. Blue colour denotes *Chromate.*

A blank test should be carried out. If a ppt. remains, add more HCl, shake and centrifuge. A ppt. indicates *Sulphate.*.

G

Test portions as follows

Bromate. (Traces may be carried through to here.) Add to part nitric acid and a crystal of $NaNO_2$. A white-yellow ppt. (AgBr) denotes *Bromate.*

Borate. If bromate absent test as follows[6]: Add HCl, centrifuge off ppt. (AgCl) spot on turmeric paper, dry (red colour). Add 1 drop 2 *N* NaOH–Black to Green. Wash in water bath in dilute HCl. A red spot indicates *Borate.*

If bromate present, take part to small volume after adding HCl and centrifuging, to destroy bromate. Apply test as above.

Citrate. Add Denigès reagent and centrifuge off precipitate ($BaSO_4$). Add 2–3 drops $KMnO_4$ solution to the solution and warm. A heavy white ppt. = *Citrate.*

Succinate. Add HCl and H_2SO_4, centrifuge off precipitates and discard them. Evaporate down to small bulk. Transfer to a tube, add a knife-point of resorcinol and 5 drops H_2SO_4. Heat at 130° C for 5 minutes in block[8]. Remove condensed water with filter paper. Cool, add 1 ml H_2O, make alkaline with 2 NaOH. Fluorescent solution = *Succinate.*

Summary

A semi-systematic scheme for the detection of 36 (or 39) anions is described of which 24 are detected directly in the scheme. These anions are separated into a number of groups and identification tests are applied without further separation. The limitations of systematic schemes are discussed.

Zusammenfassung

Ein halbsystematischer Analysengang für den Nachweis von 36 (bzw. 39) Anionen wird beschrieben, wobei 24 Anionen unmittelbar während des Analysenganges nachgewiesen werden. Diese Ionen werden in einzelne Gruppen getrennt und hierauf ohne weitere Trennung Identitätsreaktionen angewendet. Die Grenzen systematischer Analysengänge werden diskutiert.

Résumé

Description d'un schéma semi-systématique d'analyse qualitative de 36 (ou 39) anions dont 24 sont identifiés directement lors de l'application de ce schéma. Ces anions sont séparés en un certain nombre de groupes auxquels on fait subir des tests d'identification sans séparation préalable. Discussion de limitations à l'emploi des schémas systématiques.

References

[1] *R. M. Caven,* Systematic Qualitative Analysis. London: Blackie and Son.
[2] *G. Charlot,* Qualitative Inorganic Analysis. London: Methuen. p. 270.
[3] *H. Weisz,* Mikrochim. Acta [Wien] **1956,** 1225.
[4] *F. Feigl,* Spot Tests, Vol. II, 4th Ed. Amsterdam: Elsevier. 1954. p. 1000.
[5] *F. Feigl,* Spot Tests, Vol. I, 4th. Ed. Amsterdam: Elsevier. 1954. p. 306.
[6] *F. Feigl,* l. c. [5], p. 310.
[7] *F. P. Treadwell,* Analytical Chemistry, Vol. I. New York: Wiley. 1937. p. 358.
[8] *F. Feigl,* l. c. [4], p. 175.

Radiochemistry Laboratory, Wolverhampton and Staffordshire Technical College, Wolverhampton, England

The Application of the Ring Oven Technique to Radioactive Substances

(Short Note)

By

Herbert Weisz* and **Fred Scott**

With 2 Figures

(Received June 30, 1956)

The application of the ring oven technique[1] to normal analytical separations is already well established. This short note describes the extension of the technique to radioactive substances. In this way much smaller amounts can be handled. The ring-zone produced by this method may be assayed using a suitable counting device or used to prepare an autoradiograph. Autoradiography is a simple technique which does not require any elaborate apparatus and provides a permanent record.

The substances contained in a drop of test solution are concentrated into an extremely narrow ring-zone by means of the ring oven technique. This is particularly useful in autoradiography where the degree of blackening of the film depends upon the activity per unit area.

As an illustration of the method one drop of a phosphate solution containing approx. 0.01 μc ^{32}P was washed into a ring-zone on the ring oven, bathed in magnesia mixture solution, washed, and dried and then placed in contact with a film (X-ray Ilford, Industrial G) for 12 hours. A very distinct ring was obtained on developing, shown in Fig. 1.

The method has been used to identify extremely small amounts of radioactive substances. A solution was known to contain either labelled sulphate, phosphate or iodide or combinations of them. To this solution was added inactive sulphate, phosphate and iodide as carriers and one drop of the resulting solution was washed into a ring-zone with 0.1 *N* hydrochloric acid and dried. Three sectors were cut and each treated

* Present address: Technische Hochschule, Wien, Austria.

with a precipitating reagent for one of the ions in question: barium chloride for sulphate, magnesia mixture for phosphate, silver nitrate for iodide. After thoroughly washing, the sectors were dried and placed in contact with a film. Only the sector which corresponded to the active ion present gave an autoradiograph. Fig. 2 is such an autoradiograph of labelled sulphate. The lower half of the ring was not treated at all,

Fig. 1

Fig. 2

the upper half was divided into three sectors and sulphate precipitated in the first, phosphate in the second and iodide in the third one. Only the barium sulphate sector gave an autoradiograph which indicates that the only active component was sulphur.

The experiments so far carried out show that the application of the ring oven method simplifies the handling and extends the limits for the detection of very small quantities of radioactive substances.

Further work will have to be done and the results will be published in due course.

References

[1] *H. Weisz*, Mikrochim. Acta [Wien] **1954**, 140, 376, 460, 785.

Mitteilungen aus chemischen Gesellschaften

Activities of the Metropolitan Microchemical Society of New York 1955—56*

During the 1955–56 season, thirty-two new members were elected to the Society. In December 1955, the Society decided to investigate the possibility of publishing its proceedings, and a committee was appointed for this end. At the last meeting of the year, the Executive Committee moved that all charter members of the Society would be made Honorary Members.

Officers for the Society for 1955–56 were Chairman, Rev. *George J. Hilsdorf S. J.*, Chairman-elect, Mr. *Harold V. Wadlow*, Secretary, Mr. *Howard J. Francis*, and Treasurer, Mr. *A. Mistretta*. Dr. *L. K. Yanowski* was appointed permanent historian.

The first regular meeting of the year was held at the laboratories of the Esso Research and Engineering Company, Linden, N. J. After inspection of the laboratories in the afternoon, the members of the Society were guests of Esso at Dinner. This was followed by a talk by *Paul S. Kiba*, Esso Research and Engineering Company, who discussed the various techniques of light and electron microscopy. The use of the replica method for the examination of irregularly shaped surfaces such as the cylinder walls of internal combustion engines was demonstrated. A novel method of calibration for electron microscope particle size determinations by the use of standardized resin spheres concluded the paper.

The second meeting was held at Hoffmann-La Roche, Inc., Nutley, N. J. Preceding the meeting the members of the Society were conducted on a tour of the Hoffmann-La Roche Plant and Laboratory facilities. After dinner (provided by the company) *Al Steyermark*, Hoffmann-La Roche, spoke of the combined work of the Analytical Division of the American Chemical Society and the Association of the Official Agricultural Chemists on the alkoxyl determinations and demonstrated the new method and apparatus resulting from this cooperative study.

* Previous reports of the activities of this Society have been made by *L. K. Yanowski*, Chem. Eng. News **21**, 301 (1943); *A. A. Benedetti-Pichler*, Mikrochem. **34**, 112 (1948); *L. K. Yanowski* and *M. Cefola*, Mikrochem. **38**, 172 (1951); and *L. K. Yanowski*, Mikrochem. **39**, 105 (1952).

The next four meetings were held at the American Museum of Natural History. *Bert Vallee*, Harvard Medical School, reported on some of the newer methods of analysis as used in biochemical research. New methods for emission spectroscopy, enhancement of sensitivity in flame photometry by use of improved burners and fuels, paper chromatography, electrophoresis, and the techniques of fractionation, separation and identification of trace components were described.

William Parrish, Philips Laboratories, after a brief survey of the more common *X*-ray methods of analysis, explained in detail the use of *X*-ray fluorescence as an analytical tool.

The topic of one evening was the training of microchemists. *A. A. Benedetti-Pichler*, Queens College, *Julius A. Kuck*, The American Cyanamid Co. and the City College of New York, and *Mary L. Willard* of the Pennsylvania State University gave a discussion of the status of microchemical education at their respective institutions.

F. Gordon Foster, Bell Telephone Laboratories at Murray Hill, New Jersey, demonstrated some of the preparation steps needed in preparing specimens for microscopic observation. Mounting, polishing, orientation, replication, and lighting were demonstrated by means of lantern slides and an exhibit of materials in various stages of preparation.

At the final meeting of the year, "Ladies Night" at Fordham University, *H. L. Cox*, Corn Products Inc., Chicago, Illinois, spoke on gems. He described the manufacture of artificial gems and illustrated his lecture with colored slides and actual samples of manufactured gems.

The eleventh annual symposium of the Society was held on March 23rd and 24th at the American Museum of Natural History. *Ervin Stehr* of the Texas Company, Beacon Laboratories, Beacon, N.Y., was Chairman of the symposium and arranged the following program:

"Improvements in the Gravimetric Determination of Sulfur in Organic Compounds" by *Joseph Grodsky*, Ortho Research Foundation, Raritan, N. J. He described a procedure for the combustion of organic compounds using the Grote apparatus. The sulfate formed was determined as barium sulfate after precipitation in the presence of picric acid. A technique for handling the precipitate using a syringe with a special glass needle to transfer the precipitate to a Neubauer platinum crucible was also discussed.

"Method of Analyzing Small Amounts of Materials by Means of the Spectrograph" by *R. Pomatti*, The Texas Company, Beacon, N. Y. Spectrographic techniques were explained which make possible the analysis of extremely small amounts of materials—a few milligrams of solids or a few drops of liquids—for their metallic constituents and phosphorus, silicon and boron.

"Polarography of Osmium(VIII) in alkaline solutions. Rapid Coulometric Assay of Osmium Tetroxide" by *Louis Meites*, Polytechnic

Institute of Brooklyn, Brooklyn, N. Y. He said that the reduction of osmium(VIII) from alkaline solutions at a dropping mercury electrode proceeds via the +6 and +4 states to osmium(II). Reduction to metallic osmium could not be secured in the presence of alkali metal ions. A curious anomaly in the height of the third wave was due to the interaction of osmium(II) and osmium(VIII) to give a precipitate of hydrous osmium(IV) oxide in the diffusion layer. On the basis of these results, a rapid procedure has been devised for the assay of osmium tetroxide (or for the standardization of perosmate solution) by coulometry at controlled potential.

"Micro Identification of Trace Components of Fruit Juices" by *Nicholas D. Cheronis* and *Stamos Eleftheriou*, Brooklyn College, Brooklyn, N. Y. They claimed that since the advent of the micromethods (column and paper chromatography, ion exchange procedures etc.) there have been references in the literature to the characterization of milligram and microgram quantities of hydroxyl and carbonyl compounds. This paper was the first in a series of a systematic approach to the fractionation and characterization of individual organic compounds from fruit juices and other natural products. Besides the fractionation of amino acids, hydroxyl and carbonyl compounds, a procedure for carboxylic acids was also presented.

"Derivatization of Small Quantities of Organic Compounds and Lower Limits of Organic Reactions" by *Nicholas D. Cheronis*, *Herman Stein* and *Victor Levey*, Brooklyn College, Brooklyn, N. Y. A brief review was given of the factors which are important in the preparation of derivatives on the milligram scale: (a) purity of derivatizing agent, (b) effect of molar concentration of reactants and (c) purification procedure. This paper dealt with the development of exact procedures in the microderivatization of carboxyl compounds. The derivatives investigated were 2,4-dinitrophenylhydrazones, semicarbazones and methones. An apparatus was described for the derivatization and fractionation of a few micrograms of organic compounds.

"Techniques and Instrumentation for Microanalysis by Gas Chromatography" by *L. V. Guild*, Burrell Corporation, Pittsburgh, Pennsylvania. The method and necessary instrumentation were briefly described. Also, the discussion included some specific applications and the analytical results achieved for liquid and gas phase samples.

"Micro Determination of Carbonyl Groups by Hydrazone Formation" by *John Logun*, *Peter Nazzela* and *T. S. Ma*, Brooklyn College, Brooklyn, N. Y. This new modification involves the use of oxalic acid to the preparation of the 2,4-dinitrophenylhydrazine solution instead of hydrochloric acid. The oxalic acid being of an organic nature lends itself to the preparation of the above reagent solution in various types of solvents

other than methanol. The carbonyl compound under analysis is dissolved with methanol and condensed with a saturated methanolic solution of 2,4-dinitrophenylhydrazine and oxalic acid. The hydrazone thus formed, being insoluble, is filtered in the conventional manner, dried and weighed.

The final paper "Automatic Weighing" was given by *J. Kertzman*, Nopco Chemical Company, Harrison, N. Y. He stated that in order to build an automatic balance one of several transducers may be employed. There are differential transformers, linear or rotary potentiometers, resistance wire strain gauge, magnetic strain gauge, and piezocrystal electric strain gauge. The differential transformer was described as the transducer in an automatic balance. The elements, circuitry, linearity, and other characteristics of the transformer were given. The differential transformer may either be adapted to present analytical balances or to a balance based on the design of the displacement of a cantilever beam. Both instruments were described.

L. K. Yanowski, Fordham University, New York

The Society for Analytical Chemistry

Ordinary Meeting of the Society

An Ordinary Meeting of the Society was held at 7 p. m. on Wednesday, October 3rd, 1956, in the Meeting Room of the Chemical Society, Burlington House, Piccadilly, London W. 1. The Chair was taken by the President, Dr. *K. A. Williams*, F. R. I. C., A. Inst. P., M. Inst. Pet.

The following papers were presented and discussed:

The Determination of Vitamin D and Related Compounds. Part I: Introduction and Preparation of Compounds in the Irradiation Series. Part II: Analysis of Irradiation Products, by *W. H. C. Shaw*, F. P. S., F. R. I. C., *J. P. Jefferies*, B. Sc., A. R. I. C., and *T. E. Holt*, B. Sc., A. R. I. C. (Glaxo Laboratories Ltd., Greenford).

Physical and chemical methods for the determination of the vitamins D were re-examined, particularly those for determining the composition of the complex mixtures formed during the ultra-violet irradiation of the pro-vitamins D (ergosterol and 7-dehydrocholesterol). By preliminary adsorption on activated alumina of the correct grade and development of the chromatogram with a mixture of light petroleum and acetone, separation of the components of such mixtures into two main fractions was attained; individual compounds were then determined by ultra-violet adsorption spectroscopy and application of the antimony trichloride colour reaction.

In Part I a description was given of the preparation, mainly by chromatographic methods, of purified precalciferol (2), precalciferol (3), lumisterol (2) and tachysterol (2) and other compounds closely related to the vitamins D; the required ultra-violet absorption characteristics and behaviour in the colour reaction of each compound were established with these materials.

Full details for carrying out the chromatography on the analytical scale for the analysis of the chromatographic fractions and for the determination

of residual provitamin were given in Part II. Products obtained by irradiating the provitamins under different conditions were examined by the methods described, and the results were discussed in relation to the structural changes that take place during and subsequent to irradiation and in relation to the results of biological assays.

The methods were also applicable to the determination of the precalciferols and the vitamins D in high-potency preparations, but in their present form were unsuitable for materials of low potency or those containing vitamin A.

Some Examples of the Use of Paper Chromatography in Toxicological Analysis, by *A. S. Curry*, M. A., Ph. D. (Home Office Forensic Science Laboratory, Harrogate).

The use of paper chromatography in the analysis of viscera for barbiturates formed the subject of the first example. A case involving the ingestion of two barbiturates was discussed.

The second example concerned the analysis of the contents of 73 ampoules. Each was supposed to contain 1 ml of morphine sulphate solution. The role paper chromatography played in showing their actual content was described.

Joint Meeting

A Joint Meeting of the Microchemistry Group and the Midlands Section of the Society for Analytical Chemistry was held at 6.30 p. m. on Friday, October 5th, 1956, in the lecture room of the University Chemical Laboratory, Pembroke Street, Cambridge. The Chair was taken by the Chairman of the Midlands Section, Mr. *J. R. Leech*, J. P.

The subject of the meeting was "Sub-Micro Methods in Inorganic and Organic Analysis" and the following papers were presented and discussed:

Introduction, by *R. Belcher*, Ph. D., D. Sc., F. R. I. C. (Birmingham University).

Method of sub-micro inorganic analysis came into prominence after the war, when their application to the study of the trans-uranic elements was revealed. Methods of sub-micro organic analysis have so far only received occasional attention. As far as routine application is concerned, the smallest amount of sample used in organic analysis is the level reached by *Pregl* of 3 to 5 mg.

Several years ago we initiated a research programme with the object of developing a new system of organic analysis which required sample weights of only about 0.05 mg. This technique should be of value in biochemistry and physiological chemistry and should also have many other applications.

The first problem was to devise a simple balance capable of weighing accurately the sample weights required. After this had been achieved, several methods were developed which have the same order of accuracy as is attainable on the micro-scale. The technique is comparatively simple. Some methods were described in more detail later.

Work in this field is continuing and several other methods are now being perfected.

General Review of Sub-Micro Methods, by *T. S. West*, B. Sc., Ph. D., A. R. I. C. (Birmingham University).

A general review was given of some of the techniques used in sub-micro inorganic and organic analysis. Reference was made to various balances. The balance developed at Birmingham University was described.

The Determination of Alkoxyl, by *M. K. Bhatty*, M. Sc., A. R. I. C. (Birmingham University).

The determination of alkoxyl groups on samples weighing about 50 micrograms was described.

The Determination of Nitrogen, by *M. Williams*, B. Sc., A. R. I. C. (Birmingham University).

The determination of nitrogen in organic compounds on the sub-micro scale was described. A sealed tube technique is used; the digest is titrated in this tube without transference.

The Determination of Iodine, by *A. R. Shah*, M. Sc., A. R. I. C. (Birmingham University).

The determination of iodine in organic compounds on the sub-micro scale was described. The compound is decomposed with sodium in a sealed tube and the iodide is then determined titrimetrically.

The meeting was preceded at 2.0 p. m. by a visit, by kind permission of Messrs. Fisons Pest Control Limited, to their Research Station at Chesterford Park.

Joint Meeting

The South-Western Counties Section of the Royal Institute of Chemistry held a Meeting on Saturday, October 6th, 1956, at 2.30 p.m., at the Technical College, Plymouth, in which the Western Section of the Society for Analytical Chemistry were invited to participate. The Chair was taken by the Chairman of the South-Western Counties Section, Dr. *F. D. M. Hocking*, L. R. C. P., M. R. C. S., A. C. G. F. C., F. R. I. C.

The meeting took the form of a Symposium on *Careers in Chemistry* and a general discussion was opened with special contributions from *J. W. Barrett*, B. Sc., Ph. D., A. R. C. S., D. I. C., A. M. I. Chem. E., F. R. I. C., Professor *H. T. S. Britton*, D. Sc., D. I. C., F. R. I. C., *J. Idris-Jones*, M. Sc., D. Sc., F. R. I. C., and *A. C. Truman*, B. Sc., A. R. I. C.

Joint Meeting

A Joint Meeting of the Western Section, of the Society for Analytical Chemistry, with the Royal Institute of Chemistry, was held at 7 p. m. on Wednesday, October 10th, 1966, at the Technical College, Newport, Mon. The Chair was taken by the Chairman of the Western Section, Mr. *P. J. C. Haywood*, B. Sc., F. R. I. C.

A lecture on *Sequestering Agents and their Analytical Applications* was given by *R. L. Smith*, B. Sc., Ph. D., A. R. I. C.

Buchbesprechungen

E. Hecker: **Verteilungsverfahren im Laboratorium.** Mit einem Geleitwort von *A. Butenandt.* (Monographie Nr. 67 zu „Angewandte Chemie" und „Chemie-Ingenieur-Technik".) Mit 89 Abb., 74 Tab., 229 S. Weinheim/Bergstr.: Verlag Chemie GmbH. 1955. DM 19.—.

Die Ausnützung von Unterschieden der Verteilungskoeffizienten zur Auftrennung von Substanzgemischen hat im letzten Jahrzehnt in mehrfacher Form weite Anwendungsbereiche gefunden, vor allem in der Form der Verteilung zwischen zwei flüssigen Phasen, deren eine durch Bindung an ein Trägermaterial stationär gehalten wird (Verteilungschromatographie, Papierchromatographie). Ein in vielen Fällen sehr wertvolles Instrument ist auch die *multiplikative Verteilung* einer oder mehrer Substanzen zwischen zwei beschränkt mischbaren flüssigen Phasen. Diese Verfahren haben seit *Jantzen* (1932) und besonders seit sie *Martin* und *Synge* (1941), bzw. *Craig* (1943) vor allem auf dem Naturstoffgebiet zur Isolierung und Reindarstellung biologisch wichtiger Substanzen dienten, zu wesentlichen Einblicken in den biochemischen Aufbau der lebenden Substanz beigetragen.

Das Buch von *Hecker* bietet einen als Einführung und Arbeitsanleitung gedachten, in seinem Aufbau wohl ausgewogenen Überblick über die theoretischen und apparativen Grundlagen dieser Methoden, deren Verfahren für diskontinuierliche und kontinuierliche Arbeitsweisen und die Substanzklassen, auf die sie hauptsächlich Anwendung gefunden haben. Dabei ist besonders die Betonung der für den Praktiker wichtigen Gesichtspunkte, die sich aus der chemischen Konstitution der zu trennenden Substanzen und der in Frage kommenden Lösungsmittel für die Auswahl eines brauchbaren Lösungssystems ergeben, wertvoll; ebenso auch die einfache Darstellung der Rechenschemen, die mit Hilfe der beigegebenen Rechentabellen die Aufstellung theoretischer Verteilungskurven ermöglichen.

Die Lektüre des Buches bietet nicht nur einen ausgezeichneten Einblick in die Möglichkeiten und Grenzen der Anwendung der Verteilungsverfahren. Sie vermittelt dem an der Isolierung und Reindarstellung von Substanzen Interessierten wie auch dem Analytiker Einblick in den erforderlichen apparativen und arbeitsmäßigen Aufwand. Letzten Endes gibt das Buch auch vielfältige Anregungen für alle Fragen, die mit der Verteilung zwischen flüssigen Phasen überhaupt zusammenhängen.

Besonders hervorgehoben zu werden verdient, daß die Verteilungsverfahren dem organisch-analytisch tätigen Mikrochemiker durch die auch mit kleinen Verteilungsbatterien durchgesetzten Stoffmengen die Möglichkeit bieten, die getrennten Substanzen z. B. durch anschließende Elementaranalysen oder Gruppenbestimmungen chemisch zu charakterisieren. Dies kann in

vielen Fällen einen Anreiz zur Anwendung dieser Methoden trotz des nicht geringen Aufwandes sein, da diese Möglichkeit z. B. der arbeitsmäßig einfacheren Papierchromatographie in den meisten Fällen fehlt.

Gegenüber dem reichen, durch über 500 Literaturhinweise, ein sorgfältig zusammengestelltes Sachverzeichnis, gut ausgewählte Abbildungen und zahlreiche Tabellen ergänzten Inhalt fallen geringe Druckfehler kaum ins Gewicht; z. B. enthält die wichtige Tabelle der begrenzt mischbaren Lösungsmittelpaare zum Teil nicht fehlerfreie Angaben physikalischer Konstanten.

St. Hölzel-Linz/Donau

H. M. Ulrich: **Handbuch der chemischen Untersuchung der Textilfaserstoffe.** Erster Band: *Vorarbeiten und allgemeine Methoden. Feuchtigkeitsbestimmung, Qualitative und quantitative Faseranalyse.* Anhang: Röntgenographische Faseruntersuchung. Mit 69 Abb., XVIII, 330 S. Wien: Springer-Verlag. 1954. Ganzl. S 324,—, DM 54,—, sfr. 55,30, $ 12,85, £4/12/-.

Das Handbuch der chemischen Untersuchung wird nach Abschluß in vier Bänden vorliegen. Wer nur halbwegs einen Überblick über den Umfang und die Vielfältigkeit der internationalen Literatur auf dem einschlägigen Gebiet hat, wird das Ausmaß der Arbeit, das der Verfasser mit der Schaffung dieses Handbuches auf sich genommen hat, richtig einschätzen und den dazu unerläßlichen Mut bewundern. Denn fast könnte es scheinen, daß das Unternehmen die Arbeitskraft eines einzelnen übersteigt. Die Chemie nimmt heute zweifellos eine dominierende Stellung auf dem gesamten Textilgebiet ein. Alle wirklich bahnbrechenden Fortschritte sind der Chemie zu verdanken, während sich die Entwicklung auf textilmechanischem Gebiete bei allen imponierenden Leistungen doch nur in bekannten Bahnen bewegte. Ein „Handbuch der chemischen Untersuchung der Textilfaserstoffe" entspricht daher bei dieser Sachlage einem echten Bedürfnis aller interessierten Kreise. Es zeugt für die Gründlichkeit der Arbeit des Autors, daß er aber auch auf rein physikalische Methoden eingeht, soweit sie eben für eine abgerundete Behandlung des Stoffes unerläßlich sind.

Angesichts des eingangs erwähnten außerordentlichen Umfanges des Schrifttums von oftmals recht unterschiedlichem Wert ist es natürlich unmöglich, die Literatur lückenlos zu berücksichtigen, was auch schon aus Gründen des Umfanges des Werkes undurchführbar wäre. Der Autor ist daher vor die nicht leichte Aufgabe gestellt, aus der Überfülle des Materials das Wesentliche und Wertvolle auszuwählen, was ihm im allgemeinen auch gelungen ist. Wenn trotzdem einige Hinweise gemacht werden, so will der Rezensent damit keineswegs das eingangs Gesagte einschränken und den Wert des Buches schmälern, sondern damit Anregungen für eine eventuelle Berücksichtigung in den weiteren Bänden geben.

Auf S. 1 und S. 313 wird über das Zerschneiden von Fasern als Vorbereitung für analytische Zwecke gesprochen; es wäre hier die in „Draft specification" der International Wool Textile Organization beschriebene Vorrichtung zu erwähnen, die bereits in einschlägigen Normvorschriften einzelner Staaten Aufnahme gefunden hat. In der Literaturangabe auf S. 18 ist die aufschlußreiche Arbeit von *Elöd* und *Rauch* über den Nachweis von Mantelzonen in Zelluloseregeneratfasern (Melliand, 34/1) übersehen worden. Die „Reprise" ist eine „Usance" und kann daher nicht als „gesetzlich festgelegter Feuchtigkeitszuschlag" bezeichnet werden, wie dies auf S. 47 geschieht. Bei der Erwähnung von Namensbeispielen für Chemiefasern sollten

stets aktuelle Namen verwendet werden; als Beispiel für Kaseinfasern wären statt des längst vom Markt verschwundenen „Tiolan" die englische „Fibrolane"- oder die italienische „Merinova"-Faser (früher „Lanital") zu nennen gewesen. Bei der Erkennung von „toter und unreifer Baumwolle" fehlt der Nachweis nach *A. Herzog*, der heute die Grundlage für den weitgehend anerkannten „Immaturity-Test" bildet. Nach der heute üblichen Nomenklatur sind die Ausdrücke „Kunstbaumwolle" und „Kunstwolle" nicht mehr gebräuchlich und statt „Cuprama-Kunstseide" spricht man von „Cupra", wie überhaupt der Ausdruck „Kunstseide" im Deutschen durch „Reyon" ersetzt worden ist. Die mikroskopische Unterscheidung von Ardil und Schafwolle kann mitunter auf Schwierigkeiten stoßen, da die Wollfasern aus gewalkter Ware nicht selten starke Schädigungen der Schuppenschichte aufweisen, so daß deren Fehlen kein eindeutiger Beweis für das Vorliegen von Ardil ist. Wenn auch Flockenbast heute praktisch ganz ohne Bedeutung ist, so soll darauf hingewiesen werden, daß Flockenbast keineswegs aus den Einzelfasern von Flachs oder Hanf besteht, die ja spinntechnisch schwierig zu behandeln wären, weshalb auch der Ausdruck „Flockenbast in reiner Form" zu Irrtümern Anlaß geben kann. Eine Chlorbehandlung bei der Flockenbasterzeugung stand nur beim „Corte-Verfahren" in Verwendung und war nicht allgemein üblich. Schließlich sei noch erwähnt, daß man nach dem heutigen Stand der einschlägigen Forschung „Glas" nicht mehr als amorphen Körper bezeichnen kann.

Diese wenigen Bemerkungen betreffen durchaus geringfügige Versehen, die das Verdienst *Ulrichs* in keiner Weise beeinträchtigen können. Schon der I. Band des Handbuches bringt eine außerordentliche Fülle interessanter und für Praktiker und Forscher gleich wichtiger Einzelheiten, die bisher nur in einem umfangreichen Schrifttum weit zerstreut und nicht immer leicht zugänglich waren. Die übersichtliche Anordnung des Stoffes wird das Werk jedem in der Textilprüfung Tätigen zu einem unentbehrlichen Helfer machen.

E. Grünsteidl-Wien

W. Lipp: **Histochemische Methoden.** Eine Sammlung. Lieferung IV und V. München: R. Oldenbourg. 1955. Je Lief. DM 6,—.

Von dieser großangelegten Sammlung histochemischer Methoden sind nun weitere zwei Lieferungen erschienen, die sich so wie die vorherigen durch ihre klare Gliederung, durch die exakte Wiedergabe der Arbeitsvorschriften und durch die präzisen Literaturangaben auszeichnen. Als besonderer Vorzug der bisher erschienenen fünf Lieferungen dieses Sammelwerkes kann die weitschauende Planung beim Aufbau angesehen werden.

W. Stöckl-Wien

Mikrochimica Acta 1956

Sachregister — Subject Index — Table des matières

Qual. = Qualitative Reaktionen — Qualitative Reactions — Réactions qualitatives.
Grav. = Gravimetrie — Gravimetric Analysis — Analyse gravimétrique.
Vol. = Maßanalyse — Volumetric Analysis — Analyse volumétrique.
Chrom. = Chromatographie — Chromatographic Analysis — Analyse chromatographique.
Kol. = Kolorimetrie, Photometrie, Spektrophotometrie — Colorimetric, Photometric, Spectrophotometric Analysis — Colorimétrie, Photométrie, Spectrophotométrie.
El. = Elektrochemische Methoden — Electrochemical Methods — Méthodes électrochimiques.
Krist. = Kristallographie — Cristallography — Cristallographie.
Spektr. = Spektralanalyse — Spectral Analysis — Analyse spectrale.
App. = Apparatives — Apparatus — Appareilles.
Div. = Diverses — Miscellanous — Divers.

	Qual.	Grav.	Vol.	Chrom.	Kol.	El.	Krist.	Spektr.	App.	Div.
Absorption										645
Acetylformazyl Acétylformazyle	1415									
Acide anthranilique	1818				1818					
Acide 3-hydroxyanthranilique	1818				1818					
Acide isoamylpropylbarbiturique, inactif							1175			
Acide isolysergique				1377			1193			
Acide isonicotique							104			
Acide kynurénique	1818				1818					
Acide lysergique				1377			1193			
				1662						
				1679						
Acide nicotique							104			
Acide nitrique					1672					
Acide phénarsazinique	1490				1672					
Acide xanthurénique	1818				1818					

	Qual.	Grav.	Vol.	Chrom.	Kol.	El.	Krist.	Spektr.	App.	Div.
Acides gras, non saturées	1722			1722						
AgBr										1430
AgCl										1430
$AgMnO_4$	1705									1705
Al	1593				1540					
Alcalimetals								353		
								1247		
								1788		
Alcaloïdes de l'ergot				1377						
				1500						
				1662						
				1679						
Aldehyde(s) — Aldéhydes	747			1277						
Aliphatische Amine, sekundäre					966					
Alkalimetalle								353		
								1247		
								1788		
Alkaline earth metals									1839	1839
Alkoxyl(e)			1216							
Ameisensäureester	1767									
Amide nicotique							104			
Amines aliphatiques secondaires					966					
Aminoacides — Amino acids				1264						
Amino nitrogen					1333					
Aminosäuren				1264						
Amino-Stickstoff					1333					
Analyse comparative par luminescence										1105
Analyse du vin										1774
Analyse élémentaire										1456
Analyse minérale qualitative										1842
										1847
Analyse potentiométrique, ultramicro-										619
Analyse qualitative, rapide										662
										1747
Analysis of medicinals										118
Anomalies, inconscientes et individuelles										577
Anorganische Analyse, qualitative										1842
										1847
Anthranilic acid Anthranilsäure	1818				1818					
Arzneimittelanalyse										118
As	1705									
Au	812									

	Qual.	Grav.	Vol.	Chrom.	Kol.	El.	Krist.	Spektr.	App.	Div.
Auftragpipette				1434						
Ausstellung										1096
Austauschspektrophotometrie					1617					
Azote aminé					1333					
Ba			734							
$BaSO_4$			734							
Be					1540					
Bi	1593				528	1593				
Bismuthate de sodium										1432
Boiling point									1373	
Book reviews										1103
										1330
										1439
										1568
										1727
										1864
Br	1225	1603	869			414				
	1705	858				877				
						906				
Brechungsindex										104
										645
Brenzcatechin						1573				
Bromat(e)				750				750		
Buchbesprechungen										1103
										1330
										1439
										1568
										1727
										1864
C	1317	850							1544	836
	1512	858							1550	
	1705	877							1735	
	1762	899								
^{14}C										1068
Ca	1310	268			760					
		770								
Carboxyl(e)				955						
Carbure de silicium								343		
Cathode arc layer								311		
								382		
Cathode, dorée										
Cathode, gilded										1433
Cd	1593		770		1540	1593				
Cétohexoses	1600									
Cétones	747									
Chemieunterricht										191
Chimie légale										221
Chlorat(e)				750				750		
Chlorhydrate de dolantine							1175			

	Qual.	Grav.	Vol.	Chrom.	Kol.	El.	Krist.	Spektr.	App.	Div.
Chromatographie gazeuse										1038
Chromatographie sur papier										43
										700
										1211
Cl	1225	858	869			414				
	1705	1603	1488			877				
			1834			906				
Co	682		770	1389	1389					
					1526					
CO										1023
										1481
CO_2										1023
										1038
										1481
Communications										1322
										1435
										1727
										1858
Copper finds								1649		
Cr	682					1593				
	1593									
o-, m-, p-Cresol										
o-, m-, p-Crésol						1573				
Cu	263		770	1621	288	1593	263			
	1415		1621		804					
	1593				1333					
					1621					
Cyclopental — Cyklopental							1175			
Cystein(e)			1216							
Cystin			1216							
Dampfdruck										1005
Découvertes préhistoriques en cuivre								1649		
(d,l)α,β-Dibromhydrozimtsäureäthylester										
(d,l)α,β-Dibromohydrocinnamic ethylester							1175			
Diéthylamide nicotique (coramine)							104			
Diffractométrie à rayons X										422
1,8-Dihydroxyanthrachinon 1,8-Dihydroxyanthraquinone						252				
1,8-Dihydroxy-3-methylanthrachinon — 1,8-Dihydroxy-3-methylanthraquinone — 1,8-Dihydroxy-3-méthylanthraquinone						252				

	Qual.	Grav.	Vol.	Chrom.	Kol.	El.	Krist.	Spektr.	App.	Div.
1,8-Dihydroxy-3-methyl-anthron(e) — 1,8-Dihydroxy-3-méthyl-anthrone						252				
„Dimetox“					125					
Dolantinhydrochlorid Dolantin hydrochloride							1175			
Echange d'ions	682									651
Eisenforschung										474
Electrochromatophorèse										1585
										1729
Electrochromatophoresis										1585
										1729
Electrophorèse, micro										54
Electrophorèse sur papier	1593					237				
						462				
						1585				
Elektrochromatographie										1585
										1729
Encre				1729		1729				
Enseignement de la chimie										191
Enseignement microchimique										202
Erdalkalimetalle								1788	1839	
Erdölprodukte	171									
Ergot alkaloids				1377			1193			
				1500			1783			
				1662						
				1679						
„Erio OS“	785									
Errors, individual and inconscientious										577
(d,l) Ester éthylique de l'acide α,β-dibromohydrocinnamique							1175			
Ester méthylique de l'acide α-hydroxynaphthoïque							1175			
Esters formiques Esters of formic acid	1767									
Exchange spectrophotometry					1617					
Excitation à haute fréquence								401		
Exposition										1096
F		1829	843		1333					
			858							
			869							
			899							
Falicain — Falicaïne							1175			
Fatty acids, unsaturated	1722			1722						

	Qual.	Grav.	Vol.	Chrom.	Kol.	El.	Krist.	Spektr.	App.	Div.
Fe	1310		770		268	1593				
	1593				804					
					1333					
Fernschmikroskopie										555
Fettsäuren, ungesättigte	1722			1722						
Flame photometry										
Flammenspektrometrie								353		
								362		
								1247		
								1788		
Force de réseau							992			992
Forensic chemistry										221
Formaldehyd(e)										
Formaldéhyde	1277			1277						
Formyl(e)	1767									
Fructose — Fruktose	1600									
Furfurol	1277			1277						
Ga				1230	1219					
				1238	1230					
					1238					
Gas-Chromatographie										
Gas chromatography										1038
Ge	682				1445					
Giftanalyse										221
Gitterkräfte										992
Glimmschichtmethode								311		
								382		
γ-Globulin(e)	237									
H	1705	850							1544	836
		858							1550	1481
		877							1735	
		899								
		1705								
H_2S					1031					
Halids					1617					
Halogene — Halogènes										
Halogens		858	869			414				
		1603				877				
						906				
Halogenide — Halogénures					1617					
Hg	1415									
	1593									
	1705									
High frequency excitation								401		
High frequency titration						1573				
Hochfrequenzanregung								401		
Hochfrequenztitration						1573				
Homogeneity index										
Homogenitätsindex										535

	Qual.	Grav.	Vol.	Chrom.	Kol.	El.	Krist.	Spektr.	App.	Div.
Hydrazide isonicotique (Rimifon)							104			
Hydrazide nicotique							104			
Hydrochinon — Hydroquinone						1573				
3-Hydroxyanthranilic acid 3-Hydroxyanthranilsäure	1818				1818					
3-Hydroxyflavone(s)	1169									
3-Hydroxykynurenin 3-Hydroxykynurénine	1818				1818					
1-Hydroxynaphthoic acid-2-methylester — 1-Hydroxynaphthoesäure-2-methylester							1175			
Identification of organic compounds — Identification des composées organiques										925
In	179									790
	812									797
Indice de réfraction										104
										645
Indice d'homogénéité										535
Inks				1729		1729				
Inorganic analysis, qualitative										1842
										1847
Insecticides — Insektizide					125					
Ionenaustausch Ionexchange	682									651
Ions lanthane	1495									
Ir	812									
	1474									
IR-Spectroscopy IR-Spektroskopie								454		
								741		
								750		
Isoamyl propyl barbituric acid, inactive — Isoamylpropylbarbitursäure, inaktive							1175			
Isolysergic acid Isolysergsäure							1193			
Isonicotinsäure							104			
Isonicotinsäurehydrazid (Rimifon)							104			
Isophyllen(e) — Isophyllène							1175			
J (I)	1225	858	257			877				273
	1705	1603	869							
Jodat(e)				750				750		

	Qual.	Grav.	Vol.	Chrom.	Kol.	El.	Krist.	Spektr.	App.	Div.
K	1310				1540					
	1788									
Kathode, vergoldet										1433
Ketone(s)	747									
Ketohexosen — Ketohexoses	1600									
o-, m-, p-Kresol						1573				
Kriminalistik										226
Kupferfunde								1649		
Kynurenin — Kynurénine	1818				1818					
Kynurenic acid Kynurensäure	1818				1818					
Lanthanone Lanthanum ions	1495									
Lignin	159									
Limit de détection Limit of detection								304		
Livres, revues										1103
										1330
										1439
										1568
										1727
										1864
Luminescence analysis, comparative — Lumineszenzanalyse, vergleichende										1105
Lysergic acid				1377			1193			
				1662						
				1679						
Lysergic acid (iso)				1377						
				1662						
Lysergsäure				1377			1193			
				1662						
				1679						
Lysergsäure (iso)				1377						
				1662						
Mass spectrometry Massenspektrometrie								437		71
										836
Mercaptanes — Mercaptans Merkaptane				1144						
Melting point									1373	
Metalle — Metals — Métaux										1155
Métaux alcalino terreux								1788	1839	1839
Métaux alcalins								362		
								1247		
								1788		
Methionin(e) — Méthionine			1216							
Méthode de la couche cathodique								311		
								382		

	Qual.	Grav.	Vol.	Chrom.	Kol.	El.	Krist.	Spektr.	App.	Div.
Méthode du four annulaire	667				667	1531			667	
	1366				1540					
	1847									
	1856									
Méthodes spectrographiques, ultramicro										1
N-Methylphenyl-isopropyl-amin(e) — N-Méthyl phénylisopropylamine	244						244			
Methyl red — Methylrot							1175			
Mg	1310		268		1540			1788		
	1593		770							
Micro apparatus										
Micro dispositifs									1751	
Micro elementary analysis										1456
Microbalance									591	
Microelectrophoresis										54
Microosmometer										
Microosmomètre									982	
Microscope à contraste de phase							154			
Microtelevision										
Microtélévision							638		638	
Mikroelektrophorese										54
Mikroelementaranalyse										1456
Mikromethoden im Lehrplan										202
Mikromeßgeräte									1751	
Mikroosmometer									982	
Mikroskopierschale									1565	
Mikrowaage									591	
„Mipafox"					125					
Mitteilungen aus chemischen Gesellschaften										1322
										1435
										1727
										1858
Mn	1593		770			1333				
						1593				
$MnCO_3$										1116
Mo	458	458			458	1366				
	1366									
Monoterpene(s)										
Monoterpènes				184						
Morin(e)	1169									
Mutterkornalkaloide				1377			1193			
				1500			1783			
				1662						
				1679						
N	1705		1183						1369	836
									1544	858

	Qual.	Grav.	Vol.	Chrom.	Kol.	El.	Krist.	Spektr.	App.	Div.
N										1111
										1140
Na								1788		
Nachweis organischer Verbindungen	925									
Nachweisgrenze								304		
α-, β-Naphthol						1573				
Natriumwismutat										1432
Nb				689	778					
Nb_2O_5	1310		770							
Ni	1310				522					
	1593				1333					
Nicaethamidum (Coramin)							104			
Nicotin(e)	948									
Nicotinic acid							104			
Nicotinic acid hydrazide							104			
Nicotinsäure							104			
Nicotinsäure-Hydrazid							104			
Nicotylamid(e)							104			
Nikotin	948									
Nitrat(e)	1136				1672					
	1490									
Nitric acid	1490				1672					
NO					1120					
NO_2					1120					
N_2O_3					1120					
Nylon					1333					
O			822						1120	
			858							
			863							
			1120							
			1757							
Objektträger									1565	
Oligo-éléments					804			299		
								339		
								393		
„Oxycain/Oxyprocain" „Oxycaïne/Oxyprocaïne"							1175			
P	1705	858			551					
					1350					
Pantocain-Base Pantocain-base Pantocaïne-base							1175			
Paperchromatography										43
										700
										1211
Paperelectrophoresis	1593					462				
						1585				
Papierchromatographie										43
										700

	Qual.	Grav.	Vol.	Chrom.	Kol.	El.	Krist.	Spektr.	App.	Div.
Papierchromatographie										1211
Papierelektrophorese	1593					462				
						1585				
Pb	1593		770		485	485		319		
								339		
Pd	1152	1515								
	1415									
Pesée de précision										565
										577
Petroleum products	171									
Phase contrast microscope Phasenkontrastmikroskop							154			
Phenarsazinic acid Phenarsazinsäure	1490				1672					
Phenol						1573				
Phenylazo-β-naphthol							1175			
Phenyl-1-dimethyl-3,5-triazol-1,2,4-bromäthinyl-cyklohexanol — Phenyl-1-dimethyl-3,5-triazole-1,2,4-bromethinylcyclo-hexanol — Phenyl-1-dimethyl-3,5-triazole-1,2,4-bromethinylcyclohexanol							1175			
β-Phenyl-isopropylamin(e) β-Phénylisopropylamine (Benzedrin)	244									
Phloroglucin Phloroglucinol						1573				
Photodensitomètre à réflexion					1333				1333	
Photométrie de flamme ...								353		
								362		
								1247		
Pipet — Pipette				1434						
Pipette gravimétrique de précision										630
Point d'ebullition									1373	
Point de fusion									1373	
Police problems										226
Polyamide(s)					1333					
Postgraduate training program										191
Potentiometric analysis, ultramicro- — Potentiometrische Analyse, ultramikro-										619
Power of lattice							992			992
Präzisionswägepipette nach *Pregl*										630

	Qual.	Grav.	Vol.	Chrom.	Kol.	El.	Krist.	Spektr.	App.	Div.
Präzisionswägung										
Precision weighing										565
										577
Pregl precision weighing pipette										630
Problèmes criminels										226
Produits petroliers	171									
Proteine — Protéines										
Proteins			977							
Pt	812									
1-(2-Pyridyl-azo)-2-naphthol (PAN)			770							
Pyrocatéchine — Pyrocatechol — Pyrogallol						1573				
Quantitative separations										1075
Quercetin(e) — Quercitin	1169									
Radioactivité — Radioactivity — Radioaktivität	1856									27
										1050
Radioelectrophorèse										
Radioelectrophoresis										
Radioelektrophorese										462
Rapid analysis, qualitative										663
										1747
Rb								334		
Recherches sur l'acier										474
Reflectance photodensitometer — Reflexions-Photodensitometer					1333				1333	
Refractive index										104
										645
Resorcin — Résorcine										
Resorcinol						1573				
2-Retenol						1573				
Rh					1474					
Ring furnace method										
Ringofenmethode	667				667	1531				1856
	1366				1540					
	1847									
	1856									
Röntgendiffraktometrie										422
Rouge de méthyl							1175			
S	1705	858	869		836					1023
			877		1031					
			1187							
			1834							
Salpetersäure	1490				1672					
Sb	1593									
Schätzungsanomalien										577
Schmelzpunkt									1573	

	Qual.	Grav.	Vol.	Chrom.	Kol.	El.	Krist.	Spektr.	App.	Div.
Schnellanalyse, qualitative										663
										1747
„Schradan"					125					
Secondary aliphatic amines Sekundäre aliphatische Amine					966					
Séparations quantitatives										1075
Siedepunkt									1373	
Siliciumcarbid Siliconcarbide								343		
Sm					512					
Sn	1593									
SO_2										1023
										1031
SO_3										1031
Sodiumbismuthate										1432
Spécialités pharmaceutiques										118
Spectrographic methods, ultramicro										1
Spectrométrie de flamme								353		
								362		
								1247		
								1788		
Spectrométrie de masse										71
										437
										836
Spectrophotométrie Spectrophotometry										406
Spectrophotométrie d'échange					1617					
Spektrographische Methoden, ultramikro										1
Spektrophotometrie										406
Spurenelemente					804			299		
								339		
								393		
Sr								334		
Steam pressure										1005
Study of steels										474
„Sudan I"							1175			
Sulfhydryl(e)			1216							
Ta				689						
Ta_2O_5	1310									
Teaching of chemistry										202
Tension de vapeur										1005
„Test Tube"-method „Test Tube"-Methodik				1264						
Thiocarbohydrazid(e)	488	458			458					
	747									

	Qual.	Grav.	Vol.	Chrom.	Kol.	El.	Krist.	Spekt.	App.	Div.
Thiocyanat — Thiocyanide Thiocyanure	1225									
Thiomethyl — Thiométhyle			1216							
Tinten				1729		1729				
Titrage en milieux non aqueux										1518
Titrage par haute fréquence						1573				
Titration in non-aqueous medium — Titration in wasserfreiem Medium										1518
Trace elements					804		299			
							339			
							393			
Trennungen, quantitative										1075
2,4,6-Trichlorphenol 2,4,6-Trichlorophenol 2,4,6-Trichlorophénol							1175			
U				1283		1283				
				1422		1422				
Ultra microanalyse Ultra micro analysis										91
Ultramicrobalance									598	
Ultramikroanalyse										91
Ultramikrowaage									598	
Vine analysis										1774
Vitamin B_{12}				134						
W	1366					1366				
Weinanalyse										1774
Xanthurenic acid Xanthurensäure	1818				1818					
X-Ray diffractometry										422
Zn	1593		268	1685	1540					
			770		1685					

Herausgeber und Eigentümer: Springer-Verlag in Wien, I., Mölkerbastei 5. — Für den Inhalt verantwortlich: Prof. Dr. *Michael Karl Zacherl*, Wien, XIX., Chimanistraße 21.
Druck: Manzsche Buchdruckerei, Wien, IX., Lustkandlgasse 52.